



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS EXATAS E NATURAIS
FACULDADE DE QUÍMICA

FERNANDO DE SOUZA SANTOS

PRODUÇÃO DE BIODIESEL METÁLICO A PARTIR DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis*) VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA

BELÉM

2016

FERNANDO DE SOUZA SANTOS

PRODUÇÃO DE BIODIESEL METÁLICO A PARTIR DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis*) VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Químico Industrial, Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará. Orientador: Prof. Dr. José Roberto Zamian.

Data de apresentação: 27/01/2016

Conceito: EXCELENTE

BANCA EXAMINADORA



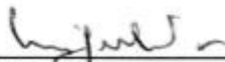
Prof. Dr. José Roberto Zamian

(Faculdade de Química /ICEN/UFPA - Orientador)



Prof. Dra. Ana Rosa Carriço de Lima Montenegro Duarte

(Faculdade de Química /ICEN/UFPA - Membro)



Prof. Msc Miguel Braga.

(Secretária de Estado e Educação/SEDUC- Membro)

PRODUÇÃO DE BIODIESEL METÁLICO A PARTIR DO ÓLEO DE PALMA (*Elaeis guineensis*) VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado para obtenção do título de Químico Industrial, Faculdade de Química, Instituto de Ciências Exatas e Naturais, Universidade Federal do Pará. Orientador: Prof. Dr. José Roberto Zamian.

BELÉM

2016

Dedico este trabalho aos meus pais,
Darialva de Souza Santos e Domingos
Santos por todo o sacrifício e por estarem
sempre presentes em minha vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por conceder-me a serenidade para aceitar as coisas que eu não posso mudar e sabedoria para as que eu posso. Quero agradecer aos meus pais Darialva e Domingos pela educação, confiança e os ensinamentos de justiça, amor ao próximo e fraternidade. A minha amada irmã Francimeire Santos pelo muito que fez por mim. A pequena Maytê por iluminar meus dias com sua serenidade de criança.

Ao Professor Dr. José Roberto Zamian, pelas orientações, pela honestidade intelectual, pela paciência e confiança.

A Rafael Vieira pela paciência e boa vontade de ensinar e orientar.

A equipe do LAPAC (Laboratório de Pesquisa e Análise de Combustíveis) em especial a Orlando Neto, Miguel Braga, Paulo Batista e Rogério Lima pela disposição e solicitude.

A Erica Mares pela amizade e ajuda nas análises. E também aos amigos, Lorena e Willison.

Aos mestres professores, em especial a Professora Regina Muller e Ana rosa Carriço.

Aos meus amigos de curso, Hugo Tiago, Wanderley Santos, Igor Rocha, Paulo Lucas, Kelly Sousa e ao demais pela amizade e companheirismo nas horas de angústia e pelos momentos de imensa alegria.

E a todos que não mencionei, mas que contribuíram de forma significativa para a realização deste trabalho.

*[...]Caminante, son tus huellas
el camino y nada más;
Caminante, no hay camino,
se hace camino al andar.
Al andar se hace el camino,
y al volver la vista atrás
se ve la senda que nunca
se ha de volver a pisar.
Caminante no hay camino
sino estelas en la mar.”*

(Antônio Machado)

RESUMO

A enzima *callera Trans L* é utilizada como biocatalisador para a produção de biodiesel metílico a partir do óleo de palma (*Elaeis guineensis*). A razão molar álcool/óleo utilizada foi de (6:1) e (7:1) e a concentração de catalisador foi de 1% em relação à massa de óleo. Foram mantidos fixas a agitação (600 rpm), a temperatura de (35 °C) e razão de água de (3% m/m) em relação a massa de óleo. A melhor condição encontrada foi a com razão molar álcool/óleo de (6:1). A conversão em massa do processo foi de 90 % e teor de éster de 97 %. A reação com razão molar de (7:1) álcool/óleo teve rendimento de 84% e teor de éster de 59%, esta última, devido a provável inibição do biocatalisador pelo álcool. Na reação com proporção (6:1) os valores determinados para os parâmetros físico-químicos do biodiesel metílico de palma encontraram-se dentro dos limites estabelecidos pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível – ANP, com exceção do teor de água e índice de acidez.

PALAVRAS-CHAVE: Transesterificação. Enzima. Biodiesel

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Representação do n-hexadecano e do palmita	19
FIGURA 2. (a) dedeizeiro.(b) Dendê fruto.....	20
FIGURA 3. Equação geral da transesterificação de triacilglicerol com álcool.	22
FIGURA 4. Esquema de transesterificação.....	22
FIGURA 5. Mecanismo enzimático para a produção de biodiesel	27
FIGURA 6. Representação diagramática da enzima na interface água óleo	29
FIGURA 7. Esquema de transesterificação 1,3- específica, e migração do grupo acila.....	30
FIGURA 8. Esquema conceitual para o mecanismo global de reação descrevendo a transesterificação enzimática	32
FIGURA 9. Reator de batelada	36
FIGURA 10. Biodiesel e glicerol.....	36
FIGURA 11. Cromatograma do biodiesel de 97% de pureza	49
FIGURA 12. Cromatograma do biodiesel de 59%% de pureza.....	50

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Estrutura química dos ácidos graxos.	17
TABELA 2. Composição dos óleos vegetais.	17
TABELA 3. Oleaginosas disponíveis no território nacional para a produção de biodiesel	18
TABELA 4. Sistema de classificação funcional das enzimas.....	25
TABELA 5. Mecanismo cinético pingue pongue Bi-Bi para a transesterificação enzimática	32
TABELA 6. Composição em ácidos graxos do óleo de palma.....	38
TABELA 7. Características físico-químicas do óleo de palma.....	38
TABELA 8. Índices de acidez após 6 horas de reação e do produto de 24h	39
TABELA 9. Teores de éster e rendimento dos produtos das reações	40
TABELA 10. Biodiesel e glicerol.	36

LISTA DE ABREVIATURAS

DAG - diacilgliceróis

MAG - monoacilgliceróis

TAG - Triacilgliceróis

LISTA DE SIGLAS

AOCS - American Oil Chemists' Society

ANP- Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

FFA - Ácidos Graxos Livres

CG - Cromatógrafo Gasoso

EN - European Norm

FID - Fire Ionization Detector

IUBMB - International Union of Biochemistry and Molecular Biology

UFPA - Universidade Federal do Pará

MAPA- Ministério da Agricultura e Pecuária

LISTA DE SÍMBOLOS

L - Unidade de volume em litros

h - Unidade de tempo em horas

g - Unidade de massa em gramas

% - Porcentagem

rpm - Rotações por minuto

mg de KOH g⁻¹ -Miligrama de hidróxido de potássio por grama

mL - Unidade de volume em mililitros

% H₂O - Porcentagem de água

KOH - Hidróxido de potássio

°C - Unidade de temperatura em graus Celsius

R'OH - álcool alifático de cadeia curta

RCOOR' - Éster alquílico de ácidos graxos

pH - Potencial Hidrogênionico

R₁ - Cadeia carbônica 1

R₂ - Cadeia carbônica 2

R₃ - Cadeia carbônica 3

RT-taxa de clivagem de uma única ligação acila em uma molécula de triacilglicerol
(mol (dm³ h)⁻¹)

RD-taxa de alcoólise (mol (dm³h)⁻¹)

RM-Taxa de alcoólise do 1-monoacilglicerol (mol (dm³ h)⁻¹)

Rm-taxa de isomerização monoacilglicérideos (mol (dm³ h)⁻¹)

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVO.....	14
2.1 Objetivo geral.....	14
2.2 objetivos específicos	14
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Histórico.....	14
3.2 Biodiesel.	16
3.3 Triglicerídeos.....	17
3.4 Matérias-primas lipídicas para a produção de biodiesel.	18
3.5 Palma (<i>Elaeis guineensis</i>).	19
3.6 tecnologias para a transformação de óleos vegetais	20
3.6.1 Microemulsão	20
3.6.2-Craqueamento	21
3.6.3 Reação de transesterificação	21
3.6.3.1 Transesterificação básica.....	22
3.6.3.2 Transesterificação ácida.....	23

3.6.3.3 Transesterificação enzimática	23
3.7 Enzimas.....	24
3.7.1 Lipases.....	26
3.7.2 Callera trans L	28
3.7.2.1 Interface	28
3.7.2.2-Concentração do metanol e taxa de formação do biodiesel.	28
3.7.2.3 A complexidade cinética do processo.....	28
3.7.2.4-Cinética enzimática e mecanismo de reação.....	24
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1 Reagentes	34
4.2 Obtenção e caracterização da matéria-prima	34
4.2.1 Caracterização físico-químicas do óleo de palma refinado	34
4.2.1.1 Viscosidade cinemática	34
4.2.1.2 Índice de acidez	34
4.2.1.3 Índice de peróxido	34
4.2.1.4 Índice de Matéria Insaponificável.	35
4.2.1.5 Teor de água.....	35

4.3-Produção de biodiesel metílico de palma	35
4.4 Caracterização físico-químicas do biodiesel.	36
4.4.1 Viscosidade	36
4.4.2 índice de acidez.....	36
4.4.3 Teor de água	37
4.4.4 Teor de éster.	37
4.4.5 Rendimento da reação	37
5 RESULTADO E DISCUSSÃO.	37
5.1 Caracterização do óleo de palma.....	37
5.2 Caracterização biodiesel de palma	39
6 CONCLUSÃO.	42
REFERÊNCIAS.....	43
ANEXOS	48

1 INTRODUÇÃO

Atualmente o petróleo é a principal fonte de energia utilizada no mundo, porém, a busca por combustíveis alternativos tem crescido nos últimos anos, uma vez que os combustíveis fósseis são os principais responsáveis pelas emissões de gases poluentes (MAGALHÃES, 2010). Há uma motivação crescente em diversos centros de pesquisas para a produção e aperfeiçoamento dessas fontes de energia alternativa e de baixo impacto ambiental. Entre os combustíveis alternativos destaca-se o biodiesel, que são ésteres de ácidos graxos, produzido a partir de fontes renováveis, tais como os óleos vegetais ou gorduras animais, através do processo de transesterificação com um álcool podendo a reação ser catalisada por álcalis, ácidos ou enzimas (KNOTHE et al.,2006)

O biodiesel é um combustível renovável e biodegradável, apresentando diversas vantagens em relação ao diesel de petróleo como, por exemplo: a redução da poluição do ar, uma vez que o carbono presente no óleo ou gordura é proveniente principalmente do dióxido de carbono contido no ar, a redução dos derramamentos de óleo e da geração de resíduos tóxicos, e a diminuição da necessidade de importação de petróleo (VAN GERPEN, 2005).

O biodiesel é um combustível ambientalmente limpo quando comparado ao diesel de petróleo, pois o mesmo reduz as emissões dos gases poluentes, além de ser biodegradável e atóxico, uma vez que está livre de compostos sulfurados e aromáticos (BENEVIDES, 2011).

A transesterificação enzimática é um processo promissor para a produção de biodiesel. Entre as inúmeras vantagens, destaca-se o uso de temperaturas brandas para o processo e o catalisador ser considerado biodegradável, em substituição aos alcalinos e ácidos.

As enzimas, mais especificamente as lipases, podem ser utilizadas como catalisadores nas reações de transesterificação de triglicerídeos (MAGALHÃES, 2010).

O dendê está entre as espécies com maior potencial para produção de biodiesel, considerando a alta produtividade de óleo e densidade energética. Além de ser uma fonte de energia alternativa renovável e uma opção ao diesel de petróleo, o óleo de palma apresenta diversas vantagens de potencialidade social, econômica e ecológica na matriz energética brasileira (MATOS, 2009).

Um dos principais aspectos na seleção da matéria-prima para produção de um combustível alternativo é o seu balanço energético. Em pesquisa realizada na Malásia, o balanço energético é positivo com 3,53 unidades geradas para a cultura da palma, contra apenas 1,44 obtido a partir do cultivo do óleo de colza (YEE et al., 2009)

Logo, neste trabalho será investigado o desempenho de uma lipase na produção de biodiesel a partir do óleo de palma refinado, determinando o teor de ésteres dos combustíveis produzidos, assim como algumas de suas propriedades físico-químicas.

2 OBJETIVO

2.1 Objetivo geral:

- Produção de biodiesel a partir óleo de palma refinado utilizando catálise enzimática.

2.2 Objetivos específicos:

- Caracterização básica da matéria-prima lipídica (óleo de palma refinado);
- Reproduzir a condição ótima encontrada na literatura;
- Verificar a ação do catalisador (enzima) aumentando-se a razão molar álcool:óleo.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Histórico

Rudolf Diesel (1858-1913) foi o primeiro a utilizar os óleos vegetais como combustível em motores do ciclo diesel tendo testado, em 1900, o desempenho de óleo de amendoim nestes motores. Entre as décadas de 1930 e 1940, os óleos vegetais foram utilizados em motores a diesel em situações de emergência (MA e HANNA, 1999).

Em razão da constante alta dos preços do barril de petróleo, aliada a questões ambientais, o elevado consumo de combustíveis fósseis e a diminuição das reservas de petróleo, muitos países estão procurando diminuir a dependência sobre os combustíveis fósseis, pela produção de biocombustíveis empregando óleos vegetais, tais como os óleos de coco, palma, canola, soja, macaúba e o pinhão manso, como matéria-prima (BRUNSCHWING; MOUSSAVOU; BLIN, 2012).

Por outra parte, os óleos vegetais apresentam dificuldades para se obter uma boa combustão, atribuídas a sua elevada viscosidade, que impede uma adequada injeção direta nos motores. O óleo vegetal deixa depósitos de carbono nos cilindros e nos injetores, requerendo manutenção constante (KNOTHE, 2001). A pesquisa realizada para resolver esses problemas conduziu a aplicação da transesterificação, técnica já conhecida desde 1853 muitos anos antes do primeiro motor a diesel tornar-se funcional, na quebra da molécula do óleo, com a separação da glicerina e a recombinação dos ácidos graxos com álcool (MYBIODIESEL, 2008). Este tratamento permitiu superar as dificuldades com a combustão. Verifica-se que a patente belga 422.877 concedida a G. Chavanne (da Universidade de Bruxelas), em 1937, constitui o primeiro relatório sobre o que é hoje conhecido como biodiesel (KNOTHE, 2001).

Do ponto de vista químico, o produto da reação do óleo com o álcool é um éster monoalquílico, cuja molécula apresenta muita semelhança com as moléculas dos derivados do petróleo. O rendimento térmico do novo combustível é de 95% em relação ao do diesel de petróleo, ou seja, do ponto de vista prático, em termos de rendimento térmico, a diferença é pequena (KNOTHE, 2001).

A trajetória do biodiesel no Brasil começou com iniciativas do Instituto Nacional de Tecnologia na década de 1920. No entanto, somente no final da década de 1970, em meio à crise energética internacional, foi criado o Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos (Pro-óleo) (LAGARES, 2012). Em 1980, o Pro-óleo passou a ser denominado Programa Nacional de Óleos Vegetais para Fins Energéticos, cujo objetivo era promover a substituição de até 30% de óleo diesel com óleos vegetais produzidos a partir de soja, amendoim, colza e girassol. Entretanto, o sucesso do Proálcool – que acabou sendo um competidor do Pro-óleo – a estabilização dos preços do petróleo, já na década de 1980, e, mormente, o alto custo de esmagamento das oleaginosas e de produção do biocombustível impediram a expansão e consolidação do Pro-óleo (LAGARES, 2012).

Em 1981, quatro décadas após a primeira patente que descrevia a produção de biodiesel por transesterificação, surgiram duas patentes brasileiras que descreviam, basicamente, o mesmo processo. As duas patentes intituladas “Processo de produção de um combustível sucedâneo de óleo tipo diesel” e “Processo de

produção de combustíveis a partir de frutos ou sementes oleaginosas” pertenciam ao Dr. Expedito José de Sá Parente (LOURENÇO, 2009).

No Brasil Em 2005, foi lançado o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). A partir de então, o Estado passou a ter metas de uso de biodiesel na matriz energética nacional. De 2005 a 2007, a adição de dois por cento (2%) de biodiesel ao diesel fóssil era autorizativa, evoluindo para ser obrigatória, no mesmo percentual (2%), de 2008 a 2012. Novas atribuições relativas aos biocombustíveis foram atribuídas ao Conselho Nacional de Política Energética e à ANP, que passou a ser denominada “Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis” (LAGARES, 2012)

Desde 1º de novembro de 2014, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 7% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), que aumentou de 5% para 7% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. A contínua elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel demonstra o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel e da experiência acumulada pelo Brasil na produção e no uso em larga escala de biocombustíveis. (ANP, 2014).

3.2 Biodiesel

O biodiesel é definido como uma mistura de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e ou/esterificação de matérias graxas, de gorduras de origem vegetal ou animal, e que atenda a especificação contida no Regulamento Técnico nº 4/2012 da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biodiesel);

Mundialmente passou-se a adotar uma nomenclatura bastante apropriada para identificar a concentração do Biodiesel na mistura. É o Biodiesel B_{XX}, onde XX é a percentagem em volume do Biodiesel na mistura (com diesel de petróleo) . Por exemplo, o B₂, B₅, B₂₀ e B₁₀₀ são combustíveis com uma concentração de 2%, 5%, 20% e 100% de Biodiesel, respectivamente (BIODIESELBR, 2015). A experiência de utilização do biodiesel no mercado de combustíveis tem se dado em quatro níveis de concentração:

- Puro (B₁₀₀)

- Misturas (B₂₀ – B₃₀)
- Aditivo (B₅)
- Aditivo de lubricidade (B₂)

3.3 Triglicerídeos

Os triglicerídeos, também conhecidos como triacilgliceróis, são os principais constituintes dos óleos vegetais e gorduras animais. Eles são ésteres de ácidos graxos formados a partir da reação de esterificação, onde uma molécula de glicerol reage com três moléculas de ácidos graxos. A molécula do glicerol é constituída por três átomos de carbono, ao qual estão ligados três grupos hidroxilas (-OH) sendo, portanto, um triálcool. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos (possuem o grupamento -COOH), podendo ser saturados ou insaturados (MAGALHÃES, 2010). As Tabelas 1 e 2 ilustram a fórmula molecular de alguns ácidos graxos e a composição de vários óleos vegetais, respectivamente:

Tabela 1. Estrutura química dos ácidos graxos.

Ácido graxo	Fórmula molecular
Butírico (C ₄ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₂ COOH
Caprílico (C ₈ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₆ COOH
Láurico (C ₁₂ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₁₀ COOH
Mirístico (C ₁₄ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₁₂ COOH
Palmítico (C ₁₆ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ COOH
Estearico (C ₁₈ :0)	CH ₃ (CH ₂) ₁₆ COOH
Oleico (C ₁₈ :1)	CH ₃ (CH ₂) ₇ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Linoleico (C ₁₈ :2)	CH ₃ (CH ₂) ₄ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH
Linolênico (C ₁₈ :3)	CH ₃ CH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CHCH ₂ CH=CH(CH ₂) ₇ COOH

Fonte: Magalhaes, 2010

Tabela 2. Composição dos óleos vegetais.

Óleo	Composição de ácido graxo(% por peso)						
	12:0	14:0	16:0	18:0	18:1	18:2	18:3
Algodão	-	0,8-1,5	22-24	2,6-5	19	50-52,5	-
Babaçu	44-45	15-17	5,8-9	2,5-5,5	12-16	1,4-3	-
Coco	44-51	13-18,5	7,7-10,5	1-3	5-8,2	1-2,6	-
Dendê	-	0,6-2,4	32-46,3	4-6,3	37-53	6-12	-
Girassol	-	-	3,5-6,5	1,3-5,6	14-43	44-68,7	-
Soja	-	-	2,3-11	2,4-6	22-30,8	49-68,7	2-10,5

Fonte: Magalhaes, 2010

3.4 Matérias-primas lipídicas para a produção de biodiesel

O biodiesel pode ser produzido a partir de diversas matérias-primas como óleo de dendê, babaçu, milho, girassol, soja, canola, colza, amendoim, mamona, óleos e gorduras residuais resultantes de processos domésticos, comerciais e industriais, etc. Com sua extensão territorial e variedade climática, o Brasil apresenta um

enorme potencial para a produção de diferentes espécies oleaginosas que podem ser utilizadas na síntese do biodiesel, segundo a tabela 3 (MARTINS, 2006).

Tabela 3. Oleaginosas disponíveis no território nacional para a produção de biodiesel

Região	Oleos vegetais disponíveis
Norte	Dendê, babaçu e soja
Nordeste	Babaçu, soja, mamona, dendê, algodão e coco.
Centro-oeste	Soja, mamona, algodão, girassol, dendê, nabo forrageiro.
sudeste	Soja, mamona, algodão e girassol
Sul	Soja, canola, girassol, algodão, nabo forrageiro

Fonte: Kucek, 2004.

A viabilidade de cada oleaginosa dependerá da sua competitividade técnica, econômica e socioambiental, além de aspectos como teor em óleo, produtividade por unidade de área, adequação a diferentes sistemas produtivos, sazonalidade e demais aspectos relacionados com o ciclo de vida da planta (RAMOS, 2003).

Neste contexto, o dendezeiro merece atenção especial, pois apresenta o maior rendimento em óleo por área plantada - 5.000 kg de óleo por hectare por ano. Além disso, o dendê é uma cultura perene, com safras anuais que dispensam o replantio. Além do maior potencial de produção por hectare e ampla possibilidade de cultivo, a composição química do óleo de dendê permite a produção de um biodiesel com propriedades físicas e combustíveis semelhantes às propriedades do óleo diesel (KNOTHE, 2005).

O ácido graxo mais abundante no óleo de dendê é o ácido palmítico (aproximadamente 38%), seguido do ácido oleico (aproximadamente 45 %). O óleo de dendê praticamente não possui ácido linolênico. A Figura 1 mostra a similaridade entre as estruturas do n-hexadecano (cetano), componente referência para o óleo diesel mineral, e o palmitato de etila, componente referência para o biodiesel (KNOTHE, 2005).

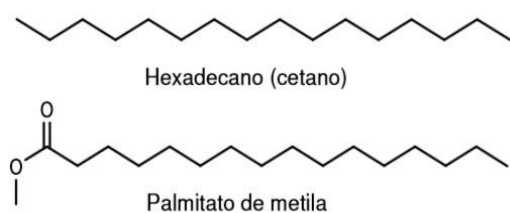


Figura 1. Representação estrutural do n-hexadecano e do palmitato de metila. Adaptado de (KNOTHE, 2005)

Essa semelhança estrutural implica em boas propriedades combustíveis dos ésteres monoalquílicos do óleo de dendê. Ausência de ácido linolênico garante ao biodiesel de óleo de dendê boa estabilidade oxidativa e, assim, boa estabilidade na estocagem (KNOTHE,2005).

3.5 Palma (*elaeis guineensis*)

A palma (*Elaeis guineensis*), popularmente chamada de dendê, é de origem africana tendo como centro específico de origem, a região do Golfo da Guiné. Introduzida na Bahia no final do século XVI, posteriormente levada à região amazônica, onde predominam as maiores áreas cultivadas (VENTURIERI, 2009)

O dendezeiro (Figura 2a) é uma planta oleaginosa com até 15 m de altura, de ciclo perene, monocotiledônea e pertencente à família das *Arecaceae* (FERWERDA, 1975). Por ser cultura perene de ciclo longo e de cultivo manual apresenta alta contribuição para o desenvolvimento social com a geração de empregos (PÁDUA, 2012). Com até 5 cm de comprimento e peso oscilando entre 3 e 30 g, o fruto do dendezeiro figura 2b é classificado como drupa do tipo séssil e elipsado, tendo sua espessura de endocarpo expressa por um gene específico, que classifica o fruto como Psífera, Dura e Tenera (BARCELOS et al., 2000; SAMBANTHAMURTHI et al., 2000). Segundo Portela (2007), três variedades de dendê são reportadas na literatura, classificadas de acordo com a espessura do endocarpo: Psífera, com fruto marcante pela ausência de casca protetora da amêndoa; Dura, que apresenta casca com pelo menos 2 mm de espessura; e Tenera, com espessura da casca inferior a 2 mm, resultante do inter cruzamento das variedades anteriores.



Figura 2. (a) dedenheiro.(b) Dendê fruto

Fontes(http://www.agenciapara.com.br/noticia.asp?id_ver=114434. Acessado em 22/11/2015, 10:15

<http://ruralpecuaria.com.br/tecnologia-e-manejo/biodiesel/embrapa-dende-fonte-de-oleo-para-biodiesel.html>) .Acessado em 22/11/2015, 10:30

Segundo MAPA (2011), o mesocarpo contém em torno de 20-22% de óleo (palma) enquanto que a amêndoa pode alcançar um teor de até 55% de óleo (palmiste). Isto comprova a superioridade em relação ao teor na cultura da soja em diversas linhagens, que varia entre 16 e 20%, confirmando um alto potencial para produção de biodiesel (BARBOSA et al., 2007; ESPINDOLA et al., 2008).

3.6 Tecnologias para a transformação de óleos vegetais

Atualmente, o interesse em tecnologias envolvendo a transformação dos óleos vegetais e gordura animal em compostos com alto valor agregado tem aumentado, podendo-se citar os processos de transesterificação, pirólise, hidroesterificação, e microemulsão. O processo de transesterificação é o mais utilizado na produção do biodiesel.

3.6.1 Microemulsão

De acordo com Ma e Hanna (1999), as microemulsões são dispersões coloidais em equilíbrio, constituídas por microestruturas fluidas e opticamente

isotrópicas de dimensões nanométricas. Elas são formadas espontaneamente por dois líquidos normalmente imiscíveis e por um ou mais compostos anfipáticos (moléculas com natureza hidrofílica e hidrofóbica) iônicos ou não iônicos. Após testes em motores, alguns estudos reportaram a existência de problemas como depósito de carbono, contaminação do óleo lubrificante, e combustão incompleta, promovendo assim, a inviabilidade da microemulsão para a obtenção de biocombustível.

3.6.2 Craqueamento

A pirólise ou craqueamento térmico é o processo de ruptura de ligações químicas de uma substância através da ação do calor, na ausência de ar ou oxigênio, podendo ou não utilizar um catalisador. Este processo normalmente não é utilizado na obtenção de biocombustível, uma vez que os produtos obtidos através deste, são quimicamente similares aos derivados de petróleo (gasolina e óleo diesel), contendo quantidade significativa de compostos aromáticos além do alto custo dos equipamentos (MA e HANNA, 1999).

3.6.3 Reação de transesterificação

A transesterificação é um processo de troca de grupos acila entre moléculas de ésteres e ácidos (acidólise), entre ésteres e outros ésteres (interesterificação) ou entre ésteres e álcoois (alcoólise) (PINTO et al., 2005). A alcoólise dos triacilglicerídeos é necessária para reduzir a viscosidade do óleo, aumentar a volatilidade e a combustão dos ésteres, o que garante sua utilização em motores de ignição a diesel sem a necessidade de qualquer modificação (FUKUDA et al., 2001). Na transesterificação de diferentes óleos e gorduras, triacilglicerídeos reagem com moléculas de álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol, e produzem ésteres e glicerina (Figura 3). Essa reação pode ser catalisada por diferentes tipos de catalisadores, a saber: catalisadores homogêneos (ácidos ou bases fortes) ou heterogêneos (químicos ou bioquímicos) (SCHUCHARDT, 1998).

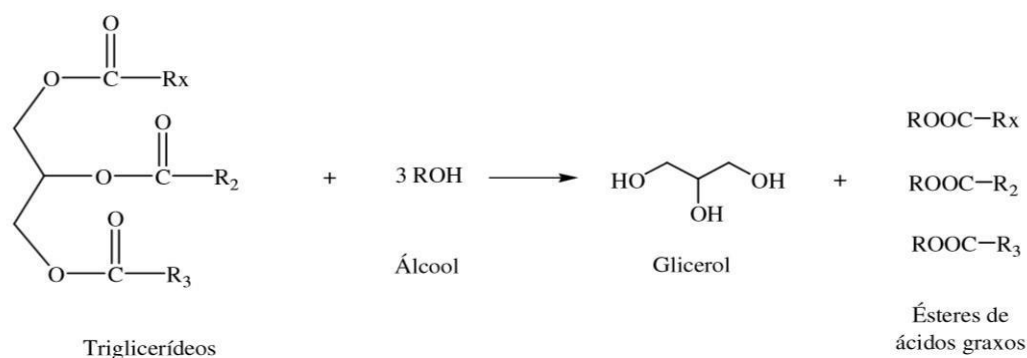


Figura 3: Equação geral da transesterificação de triacilglicerol com álcool. (R_x, R₂ e R₃ representam grupos alquilas). Adaptado de (MARCHETTI, 2007)

A reação de transesterificação ocorre numa sequência consecutiva e reversível de três etapas reacionais (Figura 4). A primeira etapa envolve a formação de diacilglicerídeos a partir dos triacilglicerídeos. Na segunda, os diacilglicerídeos são convertidos em monoacilglicerídeos e na última, esses são convertidos em glicerina. Em todas essas etapas são produzidos ésteres de cadeia carbônica longa. Embora a relação estequiométrica da reação seja de 1:3 (óleo e álcool), normalmente é empregado um excesso de álcool para favorecer a formação do produto final e facilitar a recuperação da glicerina (MARCHETTI et al., 2007).

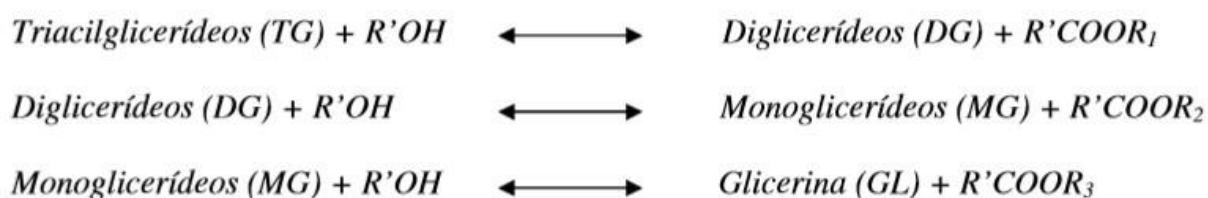


Figura 4. Esquema da reação de transesterificação. Adaptado de (MARCHETTI, 2007)

A transesterificação química catalisada por bases ou ácidos fortes destaca-se pelo elevado rendimento reacional, cerca de 99% em curto intervalo de tempo.

3.6.3.1 Transesterificação básica

Os catalisadores químicos, principalmente soda cáustica ou outras bases fortes, tornaram-se dominantes na indústria de biodiesel devido aos seus baixos

custos e rapidez do processo. Apesar da excelente produtividade, a produção de biodiesel por essa rota é limitada pela qualidade da matéria prima e pelas etapas de purificação do produto (FUKADA et al., 2001).

O processo de transesterificação alcalina requer matérias-primas de alta qualidade, uma vez que os ácidos graxos livres, fosfatídeos e água reduzem o rendimento da reação e comprometem a purificação do produto (SUAREZ et al., 2009).

A presença de água altera o equilíbrio químico reacional, favorecendo reações de hidrólise dos ésteres presentes e dos glicerídeos, formando ácidos graxos livres. Os ácidos graxos livres e os fosfatídeos reagem rapidamente com catalisadores básicos tradicionais, levando à formação de sabões e ao consumo de parte do catalisador. Sendo assim, somente óleos que contêm no máximo 0,5% de ácidos graxos livres e álcoois anidros podem ser utilizados como matérias-primas na transesterificação alcalina. Esse requerimento limita a utilização de matérias-primas de baixo custo, como os óleos residuais (SUAREZ et al., 2009).

Além disso, a quantidade de água residual gerada na produção de biodiesel pela rota convencional é da ordem de 0,2 ton/ton de biodiesel produzido (SHUERA et al., 2005) e o tratamento ou reutilização da água residual é problemático do ponto de vista ambiental e energético (FJERBAEK et al., 2008).

3.6.3.2 Transesterificação ácida

Nos processos de catálise ácida, a transesterificação é catalisada por um ácido forte, preferencialmente o ácido sulfônico ou sulfúrico. O rendimento obtido é muito elevado (99%), mas a reação é mais lenta quando comparada à catálise alcalina, sendo necessário o emprego de temperaturas elevadas (> 100 °C) e tempos reacionais de 3 h para se alcançar o referido rendimento (MARCHETTI et al., 2007).

3.6.3.3 Transesterificação enzimática

Entre os catalisadores potenciais para a produção de biodiesel, a reação de transesterificação catalisada por biocatalisadores (lipases) tem encontrado interesse atual, por se tratar de uma via eficiente quanto à recuperação do produto, às condições da reação e ao rendimento reacional (QUINTELLA et al., 2009). Em função das vantagens oferecidas, a via enzimática tem sido a mais empregada em trabalhos de pesquisa nos últimos anos. Isso é comprovado pelo número de artigos e patentes referentes ao uso de lipase na produção de biodiesel que, de acordo com estimativa recentemente publicada, supera numericamente a soma dos artigos e patentes referentes à obtenção desse combustível por todos os outros processos (QUINTELLA et al., 2009).

A rota enzimática para a produção de biodiesel é atrativa em função das seguintes características das lipases (ANTCZAK et al., 2009):

- São biodegradáveis e atendem aos apelos atuais da Química Verde.
- Maior compatibilidade com as variações de qualidade das matérias primas, uma vez que toleram maiores teores de ácidos graxos livres e de água presentes no meio reacional.
- Capacidade de produção do biodiesel em menor número de etapas e em condições reacionais brandas, levando à redução do consumo energético e da quantidade de água residual gerada no processo.
- Alta especificidade, conferindo maior facilidade de separação do produto e aumento da qualidade do glicerol.
- Podem ser reutilizadas quando na forma imobilizada.
- Podem ser empregadas na produção de biodiesel por processo contínuo.

Após o término do processo de transesterificação, a fase inferior (glicerol) pode ser facilmente separada na fase superior (biodiesel) sem a necessidade de etapas de neutralização ou desodorização do produto (ANTCZAK et al., 2009). A produtividade da síntese enzimática de biodiesel é dependente de diversos fatores. Para se assegurar a viabilidade econômica dessa rota, devem ser escolhidas matérias-primas e preparações enzimáticas apropriadas. O biocatalisador pode ser modificado, visando aumentar a sua estabilidade e reatividade. As demais etapas

incluem a seleção do solvente (opcional), otimização da razão molar óleo/álcool, temperatura, atividade de água, pH do microambiente da enzima e determinação da concentração máxima de glicerol para se evitar a inibição da enzima (ANTCZAK et al., 2009).

3.7 Enzimas

As enzimas são catalisadores biológicos de altíssima eficiência catalítica, em geral muito maior que a dos catalisadores sintéticos, pois têm alto grau de especificidade por seus substratos, aceleram reações químicas específicas e, em alguns casos, podem funcionar tanto em soluções aquosas quanto em solventes orgânicos (NELSON, 2000).

O principal componente de todas as enzimas conhecidas, com exceção das ribozimas, é a proteína, que são macromoléculas polares, formadas pela condensação de aminoácidos através de ligações peptídicas. A interação das cadeias laterais presentes, força a enzima a adotar uma estrutura tridimensional (estrutura terciária), que é responsável pela atividade química (sítio catalítico) (VOET, 2004).

A IUBMB adotou um sistema de classificação funcional, no qual as enzimas são classificadas com base no tipo de reação que catalisam. Elas foram divididas em seis classes principais e várias subclasses: as Oxirredutases realizam oxidações e reduções; as Transferases fazem a transferência de um grupo entre substratos; as Hidrolases catalisam hidrólises; as Liases realizam a eliminação de moléculas pequenas; as Isomerases promovem isomerizações; e as Ligases produzem a ligação de duas ou mais moléculas (VOET, 2004) (Tabela 4).

Tabela 4. Sistema de classificação funcional das enzimas.

Classe de Enzimas	Algumas Subclasses	Tipos de reações catalisadas
Oxidoreduções	Desidrogenases	Formação de ligação dupla por eliminação de H ₂
	Oxidases	Oxidação
	Redutases	Redução
Transferases	Quinase	Transferência de um grupo fosfato
	Transaminase	Transferência de um grupo amina

Hidrolases	Lipases	Hidrólise de um grupo éster
	Nucleases	Hidrólise de um grupo fosfato
	Proteases	Hidrólise de um grupo amido

Liasas	Descarboxilases	Eliminação de CO ₂
	Desidrases	Eliminação de H ₂ O
Isomerases	Epimerases	Isomerização de um centro estereogênico
Ligases	Carboxilases	Adição de CO ₂
	Sintetases	Formação e clivagem de ligações C-O, C-S, C-N, C-C

Fonte: Voet,2004

3.7.1 Lipases

As lipases apresentam uma versatilidade extremamente elevada, no que diz respeito à vasta especificidade de substratos e às diversas reações que catalisam (GANDHI,1997). As lipases estão presentes em diversos organismos, onde se incluem animais, plantas, fungos e bactérias. Em seu ambiente natural, as enzimas possuem a função de catalisar a hidrólise de triglicerídeos aos ácidos graxos correspondentes e ao glicerol (COSTA, 1999).

As semelhanças entre as sequências de aminoácidos das lipases, geralmente, estão limitadas a curtas extensões localizadas ao redor do sítio ativo. O sítio ativo destas enzimas é caracterizado geralmente por uma tríade catalítica constituída pelos resíduos de aminoácidos SERINA, HISTIDINA e ASPARTATO, crucial para a realização de todas as reações catalisadas por lipases, sendo portanto, classificadas como serino hidrolases. (RODRIGUES, 2010).

Apesar das enzimas possuírem centenas de aminoácidos, apenas alguns deles são diretamente responsáveis pela catálise. Porém, resíduos vizinhos podem contribuir para a estabilização de estados intermediários e desta forma auxiliar na catálise. Grupos funcionais ácidos ou básicos encontrados em locais específicos nos sítios ativos da enzima catalisam a reação através da doação ou aceitação de prótons durante o decorrer da reação (AL-ZUHAIR, 2005).

Ácidos conjugados de aminas, por exemplo, são doadores de prótons, ao passo que as aminas e os íons carboxilato são receptores de prótons. Através da transferência de prótons a partir destes grupos e para o substrato, uma enzima realiza reações ácido-base catalisadas (AL-ZUHAIR, 2005).

Dois grupos funcionais que fazem parte dos sítios ativos têm sido identificados como sendo particularmente importante para o processo catalítico. Um deles é um grupo hidroxila que atua como um nucleófilo, e o outro representa o átomo de nitrogênio de um grupo amina, o qual aceita um próton e, em seguida, devolve-a durante a reação.

O mecanismo de alcoólise catalisada por esterase é composto seguinte de passos, como mostrado na figura 5. (a) adição nucleofílica para formar complexo enzima-substrato, em que o nucleófilo é o oxigênio do grupo O-H na enzima. (b) prótons transferidos a partir do ácido conjugado da amina ao átomo de oxigênio alquila do substrato, e uma porção glicerol é formada. O átomo de oxigênio a partir de uma molécula de metanol é adicionado ao átomo de carbono do CO da enzima acil intermediário para formar complexo enzima acilada-álcool Finalmente, (d) o átomo de oxigênio de enzima do complexo é eliminado e um próton é transferido a partir do ácido conjugado da amina, resultando em éster metílico de graxo, isto é, o biodiesel(AL-ZUHAIR, 2005.).Estes passos representam um mecanismo de pingue-pongue Bi Bi, que concorda com a maioria dos estudos cinéticos anteriores sobre reações de esterificação de ácidos graxos de cadeia longa catalisados por lipase (AL-ZUHAIR, 2005.).

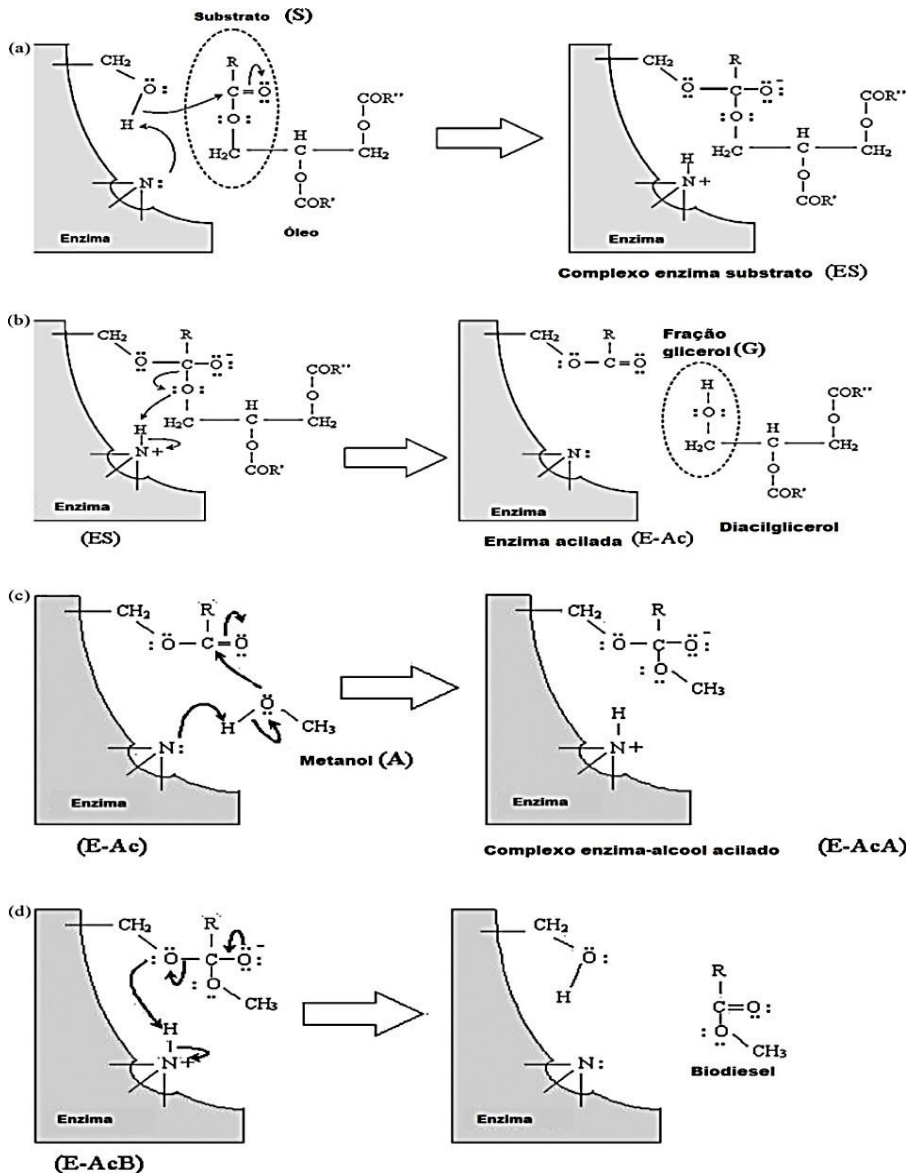


Figura 5. Mecanismo enzimático para a produção de biodiesel. Fonte: adaptado de Al-ZUHAIIR et al, 2007.

3.7.2 Callera trans L

3.7.2.1 Interface

Callera Trans L é uma formulação líquida de lipase proveniente do fungo *Thermomyces lanuginosus*, que demonstrou recentemente ser um promissor catalisador, com custo razoável, na eficiência alcóólise de triacilglicerol (NORDBLAD, 2014).

No uso de uma formulação de lipase líquida para a produção de biodiesel haverá sempre uma fase aquosa separada presente no sistema de reação, uma vez que a enzima não pode ser dissolvida na fase de óleo (MARANGONI, 2002). A enzima é ativada pela interface entre água/óleo e sua atividade catalítica não é distribuída por todo o volume da reação, mas em vez disso é de forma eficaz restrito à interface figura 6, o que significa que a velocidade da reação pode ser facilmente limitada pela área interfacial disponível (HERMANSYAH et al., 2006).

É, portanto, essencial que uma agitação adequada seja fornecida para maximizar a atividade da enzima. Além disso, a quantidade de água adicionada ao sistema também é um parâmetro importante, que afeta tanto o volume relativo das fases polares e não-polares (e, portanto, a área interfacial) e a atividade termodinâmica da água usada (TOFTGAARD PEDERSEN et al., 2014).

A Atividade termodinâmica da água (a_w) é usada para medir o teor de água numa reação. Ela apresenta a distribuição de água entre as várias fases e os efeitos de ação de massa de água no equilíbrio hidrolítico. Na verdade, este fator descreve o nível de atividade da enzima (GHAFARI-MOGHADDAM, et al., 2015).

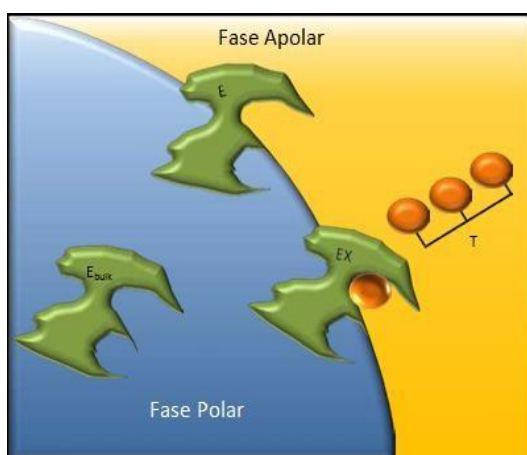


Figura 6. Representação diagramática da enzima na interface água óleo. A fase polar contém água, metanol, glicerol e a enzima livre (E_{bulk}). A fase não-polares contém os componentes de óleo (T) junto com o biodiesel formado. Na interface é penetrada enzima (E) e a enzima acil complexada (EX). Adaptado de (PRICE, J et al., 2014).

3.7.2.2-Concentração do metanol e taxa de formação do biodiesel

A taxa de transesterificação é fortemente dependente da concentração de metanol no sistema, e a taxa de formação de biodiesel pode facilmente tornar-se limitada por um fornecimento insuficiente de álcool. Infelizmente, o metanol também inibe a reação ao afetar a ligação do substrato (óleo) com a enzima (AL-ZUHAIR et al., 2012;. HERMANSYAH et al., 2010). A concentração excessiva de álcool pode acelerar a inativação da enzima (AL-ZUHAIR et al., 2007;. KULSCHEWSKI et al., 2013.).

Para combinar alta produtividade e rendimento do catalisador, é, portanto, essencial que a concentração de metanol seja cuidadosamente controlada durante a reação, especialmente quando a concentração de água é baixa. A composição da mistura de reação muda constantemente ao longo do curso da reação, com o triacilglicerol a ser convertido para diacilglicerol (DAG), sendo formados ao mesmo tempo monoacilglicerol (MAG), glicerol, biodiesel metílico e ácido graxo, o que torna o processo mais complexo. Há mudança de solubilidade do metanol com a composição da fase de óleo (ZHOU et al., 2006), o que mais do que provável que há uma modificação do impacto do metanol sobre a enzima.

Nordblad (2014), realizou estudo exaustivo de otimização do processo da reação catalisada por *Callera trans L*. Observou-se que para obter a melhor pureza as condições foram: razão molar de metanol (6:1), 3% água e 1 % de enzima, em relação à massa de óleo. Variações sutis dessas condições alteram negativamente o desempenho da enzima, ora desativando-a parcialmente deixando parcelas de mono di e triacilglicerois a serem catalisadas no caso do álcool, ora induzindo a hidrólise do biodiesel formado, no caso da água.

3.7.2.3 A complexidade cinética do processo

A cinética enzimática do processo de obtenção do biodiesel catalisado por lipase é ainda mais complexa, pois o Triacilglicerol possui três grupos hidroxila que podem ser esterificados e que agem como doadores do grupo acila na reação (FEDOSOV et al., 2012). Cada um dos grupos irão interagir de forma diferente com

ZUHAIR,2005) a concentração de substrato (óleo) é considerada constante, e a variação da concentração de metanol foi o único parâmetro considerado .

O modelo cinético desenvolvido por (AL-ZUHAIR et al., 2005) segue o mecanismo Pingue e Pongue Bi-Bi clássico com inibição pelo álcool, mas inclui também um parâmetro adicional, tendo em conta a liberação de ácidos graxos. Esse modelo é capaz de prever a taxa de metanólise com maior precisão que os anteriores.

O modelo cinético de (PILAREK et al., 2007) considera um mecanismo Pingue e Pongue Bi-Bi com a inibição competitiva pelo álcool com os pressupostos de uma clivagem irreversível da ligação éster em triacilgliceróis, uma isomerização do monoacilglicerol reversível e uma desativação enzima irreversível.

Para se ter uma imagem completa da cinética de transesterificação enzimática de triacilgliceróis, outros parâmetros devem também ser incluídos, tais como tipo de lipase, quantidades de reagentes, as limitações de transferência de massa, a presença de solventes orgânicos, a formação e a conversão de intermediários, a influência da temperatura sobre desativação da enzima ou a limitação de equilíbrio para a conversão de ácidos graxos (PRICE,J et al., 2014).

Na figura 8, de k_2 e k_{-2} a k_7 e k_{-7} , são as constantes de velocidade para a formação reversível do complexo enzima-substrato, k_9 e k_{-9} são para complexo enzima acilada-álcool, e são as constantes de velocidade para a formação do produto e a regeneração da enzima, a influência de álcool nessa etapa do processo, limita a conversão das parcelas residuais de ácidos graxos, devido ao aumento do volume do solvente ao longo da reação (PRICE,J et al., 2014)

Para ter em conta a inibição por álcool, a inibição competitiva foi assumida quando uma molécula de álcool reage com a enzima para produzir diretamente um complexo enzima-álcool irreversível, cujas constantes de velocidade são k_{10} e k_{-10} . Há inibição competitiva pelo substrato, quando uma molécula de substrato reage com a enzima acilada para produzir um outro complexo irreversível, ou seja, um complexo enzima acilada com o substrato da reação (PRICE,J et al., 2014) .

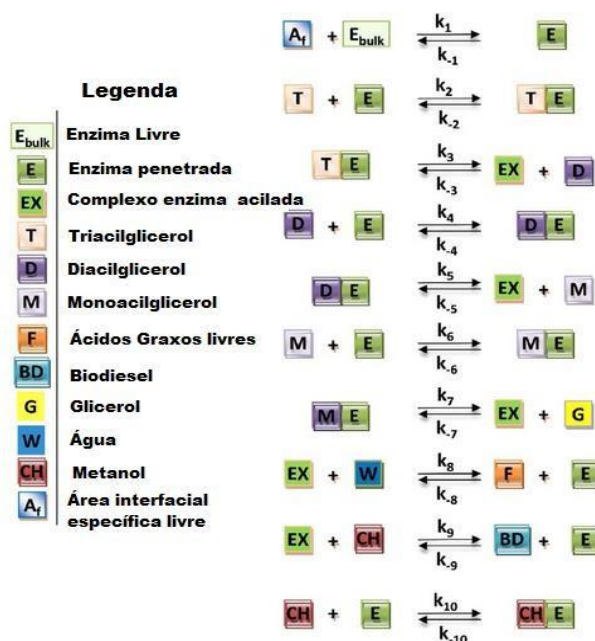


Figura 8 .Esquema conceitual para o mecanismo global de reação descrevendo a transesterificação enzimática Modificado de (PRICE,J et al., 2014).

Tabela 5. Mecanismo cinético pingue pongue Bi-Bi para a transesterificação

I	Reação	Taxa da reação(r_i)
1	$E_{bulk} + A_i \leftrightarrow E$	Enzima em grandes quantidades absorvida na interface $k_1.[E_{bulk}].[A_i] - k_{-1}[E]$
2	$T + E \leftrightarrow T.E$	Em reações 2, 4 e 6 a enzima penetrada pode reagir com $k_2.[T].[E] - k_{-2}[E.T]$
3	$E.T \leftrightarrow EX + D$	o substrato para formar um complexo de substrato da enzima E.T, ED, ou EM (Pingue) $k_3.[E.T] - k_{-3}.[EX].[D]$
4	$D + E \leftrightarrow E.D$	Em reações 3, 5. e 7 o complexo enzima substrato forma o complexo enzima acilada e liberta o primeiro produto D, M ou G (Pongue) $k_4.[D].[E] - k_{-4}.[E.D]$
5	$E.D \leftrightarrow EX + M$	$k_5.[ED] - k_{-5}.[EX].[M]$
6	$M + E \leftrightarrow E.M$	$k_6.[M].[E] - k_{-6}.[E.M]$
7	$E.M \leftrightarrow EX + G$	Etapas intermediárias para as reações foram agrupadas visto que o interesse é na taxa global. $k_7.[E.M] - k_{-7}.[EX].[G]$
8	$EX + W \leftrightarrow FFA + E$	O complexo de enzima acilada podem em seguida reagir com a água ou metanol (Pongue) $k_8.[EX].[W] - k_{-8}.[FFA].[E]$
9	$EX + CH \leftrightarrow BD + E$	e então solte o segundo produto FA ou BD (Pingue). $k_9[EX].[CH] - k_{-9}[BD].[E]$
10	$CH + E \leftrightarrow E.CH$	Inibição competitiva reversível entre enzima e metanol. $k_{10}.[CH].[E] - k_{-10}[E.CH]$

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Reagentes

O álcool metílico (99,8%) foi comprado da empresa Êxodo Científica Heptano (P.A., 99%), Hidróxido de Sódio, Heptadecanoato de Metila, Hidróxido de potássio P.A., 85%) utilizados na caracterização do óleo e do biodiesel assim como os padrões cromatográficos foram adquiridos da Aldrich.

4.2 Obtenção e caracterização da matéria-prima

A matéria prima foi cedida gentilmente pela Agropalma S. A – Belém/PA.

4.2.1 Caracterização físico-químicas do óleo de palma refinado

4.2.1.1 Viscosidade cinemática

Viscosimetria é um segmento da mecânica dos fluidos que consiste na prática experimental de medir a resposta reológica dos fluidos ao escoamento sob gravidade. A viscosidade Cinemática a 40 °C foi determinada de acordo com o método ASTM D 445, utilizando se um viscosímetro Cannon-Fenske (SCHOTT GERATE, Tipo nº 513 10) e tubo capilar de nº 300.

4.2.1.2 Índice de acidez

O índice de acidez expressa o número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para neutralizar os ácidos graxos livres em 1g de amostra de óleo vegetal. O índice de acidez foi calculado pelo método AOCS Ca 5a-40.

4.2.1.3 Índice de peróxido

O índice ou teor de peróxidos é um indicador do grau de oxidação do óleo ou gordura. É definido em termos de miliequivalentes de peróxidos por 1000 g de óleo, que oxidam o iodeto de potássio nas condições do teste. O Índice de Peróxido foi medido de acordo com o método oficial AOCS Cd 8b-90.

4.2.1.4 Índice de Matéria Insaponificável

O índice de matéria insaponificável corresponde à quantidade total de substâncias dissolvidas nos óleos e gorduras, geralmente tocoferóis, esteróis e hidrocarbonetos, que após saponificação com álcalis são insolúveis em solução aquosa, porém, são solúveis em solventes comuns de gorduras (MORETTO E FETT, 1998). O Índice de Matéria Insaponificável foi determinado de acordo com o método oficial AOCS Ca 6a-40

4.2.1.5 Teor de água

O teor de água foi determinado titulação colouométrica Karl Fischer utilizando um equipamento da marca Mettler Toledo DL31 e reagentes de alta pureza conforme o método ASTM-D6304. A análise foi realizada no laboratório Laboratório de caracterização de biomassa (Lacbio), da Engenharia Mecânica.

4.3 Produção de biodiesel metílico de palma

Um reator de batelada da marca Parr Instrument Company modelo 4848 de 600 mL (Figura 9) provido de um sistema de aquecimento e agitação foi utilizado na reação de transesterificação do óleo bruto e refinado. Inicialmente 50 g do óleo de palma foram transferidos para um bécher e aquecidos a 40 °C e posteriormente para um reator de batelada. Após, adicionou-se 0,5% (m/m) de KOH 0,1N. As quantidades de H₂O (3% em relação a massa de óleo), metanol (razão molar 6:1 álcool/óleo) e enzima (1% em relação a massa de óleo), foram adicionadas e processadas sob agitação de 600 rpm na temperatura de 35 °C por um período de 24h. A adição do metanol foi fracionada em cinco alíquotas, com intervalo de adição de 1h. Após o fim da reação, a mistura foi centrifugada a 2000 rpm por 5 minuto para a separação das fases. O biodiesel foi lavado com três porções de 100 mL de água destilada, para a remoção de impurezas como álcool, glicerol residual e catalisador. Em seguida o biodiesel foi seco aquecendo-o a 100 °C por 5 min. Após lavagem e secagem determinou-se o rendimento mássico dos produtos de cada reação. Realizou-se nova reação com razão molar (7:1) de álcool dividindo a dosagem do álcool em seis alíquotas adicionadas com intervalo de 1h. Para ambas as reações foi verificado o índice de acidez após 6 horas de reação e do produto.



Figura 9. Reator Parr utilizado na produção do biodiesel.

4.4 Caracterização físico-química do biodiesel

No produto final das reações observou-se a separação de fases biodiesel superior, e glicerol inferior, figura 10. Na interface é possível ver um aglutinado, que trata-se da enzima utilizada.



Figura 10. Biodiesel e glicerol

4.4.1 Viscosidade

A viscosidade cinemática foi determinada de acordo com método ASTM D455.

4.4.2 Índice de acidez

O índice acidez foi determinado por titulação ácido-base utilizando solução de KOH 0,1 N como titulante conforme o método EN 14104.

4.4.3 Teor de água

O teor de água foi determinado titulação colouométrica Karl Fischer utilizando reagentes de alta pureza conforme o método ASTM-D6304

4.4.4 Teor de éster

O teor de éster é a medida da pureza do biodiesel e é expresso como fração em massa (%). Para quantificar o teor de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos com cadeia entre C₁₄ e C₂₄ em amostras de biodiesel é indicada a norma EN 14103. Este parâmetro foi determinado por cromatografia gasosa utilizando-se um cromatógrafo com auto-injetor CP 3800 Varian equipado com Detector de Ionização de Chama (FID), apresentando as seguintes características: coluna capilar CP WAX 52 CB com 30 m de comprimento, 0,32 mm de diâmetro interno e 0,25 µm de filme. O gás Hélio foi utilizado como fase móvel na razão de 1,0 mL/min.

4.4.5 Rendimento da reação

Determinou-se o rendimento mássico de cada reação através da pesagem dos produtos em uma balança da marca Boeco Germany para obtenção da massa experimental de biodiesel.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Caracterização do óleo de palma

O óleo de palma pode ser considerado um óleo balanceado em ácidos graxos, já que contém proporções praticamente iguais de ácidos graxos saturados e insaturados. Os principais ácidos graxos no óleo de palma são ácido palmítico, o mirístico, esteárico, oléico e linoléico (SAMBANTHAMURTHI et al., 2000, BORA, et al., 2003). É o que pode ser comprovado pela composição do óleo utilizado na síntese biodiesel, na tabela 6. O óleo de palma é menos saturado que outros óleos, tais como os óleos de coco e de palmiste (MALASIAN PALM OIL, 2008). O óleo de palma refinado embora com menor conteúdo de carotenóides que o óleo de palma bruto, mantém as mesmas características em relação à estabilidade oxidativa,

devido a sua proporção de ácidos graxos (RODRIGUEZ-AMAYA, 1996; BRACCO,1981).

Tabela 6. Composição em ácidos graxos do óleo de palma

Ácido graxo	Concentração %
Láurico (C12:0)	0,18
Mirístico (C14:0)	0,70
Palmítico (C16:0)	41,4
Palmitoléico (C16:1)	0,12
Esteárico (C18:0)	4,50
Oléico (C18:1)	43,50
Linoléico (C18:2)	8,60
Linolênico (C18:3)	0,18
Araquídico (C20:0)	0,30
Total	99,48

A tabela 7 apresenta o resultado da viscosidade, índice de acidez, matéria insaponificável índice de peróxido e teor de água do óleo de palma. Esta caracterização demonstra o estado de conservação da matéria prima que foi utilizada na reação de transesterificação enzimática. Quase todos parâmetros da tabela 7 estão de acordo com a resolução (RDC N° 482, 1999), com excessão do índice de acidez , fator este não comprometedor para utilização na reação, visto que a enzima é tolerante a acidez elevada de óleos (CESARINI, 2013).

Tabela 7.Características físico-químicas do óleo de palma.

Parâmetros	Resultados	RDC N° 482, 1999
Viscosidade cinemática (mm s ⁻²)	43,0	-
Índice de acidez (mgKOH g ⁻¹)	1,30	0,3
Matéria insaponificável (%)	0,13	1,2
Índice de peróxido (mEqO ₂ kg ⁻¹)	2,70	10
Teor de água (mg kg ⁻¹)	380	-

5.2 Caracterização biodiesel de palma

Para avaliar a ação da *Callera trans L*, determinou-se o índice de ácidos graxos livres, teor de éster e viscosidade do produto. A tabela 8 apresenta os índices de acidez após 6 horas de reação e do produto de 24h para reações de diferentes razões molares.

Tabela 8. Índices de acidez das reações após 6 horas e do produto

Razão molar (Metanol/óleo)	Índice de acidez mgKOH g ⁻¹ (após 6 horas)	Índice de acidez mgKOH g ⁻¹ (produto, 24 h)	Cesarini, 2012 (24h)
7:1	6,3	5,8	-
6:1	5,9	4,9	4,9 ± 0,25

Para a reação de (7:1) verificou-se um aumento claro de ácidos graxos livres durante as primeiras 6 h, em que a acidez vai de 1,3 a 6,3 mgKOH g⁻¹ (tabela 8), sugerindo que há uma etapa da reação onde há hidrólise dos triacilgliceróis, liberando FFAs. TAG, DAG, MAG são bons substratos para *Callera Trans L*, que então procede à formação de biodiesel através de esterificação dos FFAs com metanol (CESARINI, 2013). A última dosagem de metanol, para a razão de (7:1) foi realizada no momento em que as parcelas DAG, MAG estão sofrendo um declínio, ou seja após as 6 h, prejudicando a conversão desses substratos e, conseqüentemente, a formação do biodiesel. A enzima provavelmente foi inibida ou desnaturada pela maior quantidade de metanol necessário para atingir da razão 7:1 (NORDBLAD,2014), o que difere do comportamento observado para catalisadores químicos em normalmente que utiliza-se um excesso de álcool devido à reversibilidade da reação havendo, dessa forma, um deslocamento do equilíbrio no sentido de formação dos produtos (MAGALHÃES, 2010). A reação realizada a razão molar de (6:1) também apresentou nas primeiras 6 horas aumento do índice de acidez, resultado do processo de hidrólise. À medida que a reação prossegue, a concentração de FFAs diminui, uma vez que a acidez do produto foi de 4,9 mgKOH g⁻¹, valor este que é semelhante ao encontrado na literatura. Essa diminuição mais

intensa da acidez indica que a enzima não foi inibida pelo álcool presente no meio reacional, permitindo a continuidade das reações de hidrólise e esterificação.

Biodiesel com acidez acima de 0,5 mg KOH g⁻¹ o torna inadequado para ser usado. Uma das desvantagens da catálise enzimática é acidez justamente a elevada acidez residual do produto da reação, devido à parcelas de FFA, não convertidas.

A reação ocorre em várias etapas, com vários componentes intermediários, e a composição do produto não é necessariamente a mesma a uma dada para diferentes condições (HERMANSYAHETAL, 2010;. MARANGONI, 2002;. ANTCZAK et al, 2009) . Segundo a tabela 9, o rendimento da reação de (7:1) foi de 84% em relação à massa inicial de óleo utilizada na reação e o teor de éster do biodiesel de foi de 59,5%, o que revela, nas condições de síntese utilizadas, uma conversão em massa significativa, mas com uma pureza insatisfatória. Enquanto a reação (6:1) apresentou um rendimento e pureza bem superiores, o que demonstra ser a melhor condição.

Tabela 9. Teores de éster (obtidos e da literatura) e rendimento dos produtos das reações

Razão molar (Metanol/óleo)	Teor de éster	Teor de éster (Cesarini, 2013)	Rendimento
6:1	97%	96,3 ± 0,8 %	90%
7:1	59,5%	-	84%

O teor de éster, obtido de 59,5% para a reação (7:1) indica que há conversão de parcelas MAG e DAG, embora haja inibição, ou até mesmo desnaturação, da enzima. O teor de éster para a reação (6:1) de 97%, indica que para além deste ponto, a reação se aproxima do equilíbrio cinético, onde MAG e FFA, não são mais convertidos, além da inibição competitiva da enzima pelo substrato, onde a molécula de substrato reage com a enzima acilada para produzir um complexo irreversível que não permite que as últimas parcelas de FFA sejam convertidas (Al-ZUHAIIR et al, 2007), o que explica a acidez final do biodiesel alta tabela 8. O teor de éster apresentado pela o biodiesel da reação de (6:1) está dentro da resolução N° 45 da ANP, no entanto apresenta uma acidez inadequada, conforme a mesma resolução.

No Brasil, a Resolução N° 45 da ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível), implementada em 25 de Agosto de 2014, estabelece a especificação do biodiesel puro (B₁₀₀) e as metodologias para sua caracterização. O biodiesel produzido com razão molar óleo/álcool (6:1), segundo a tabela 10 apresenta uma viscosidade dentro dos padrões da ANP, No entanto um teor de água acima do limite de 200 mg kg⁻¹ estabelecido pela resolução. Quando o biodiesel apresenta uma alta concentração de produtos intermediários da reação como mono e diacilgliceróis, tende a absorver água prejudicando a sua qualidade (SRIVASTAVA E PRASAD, 2000). Foi o que aconteceu com o biodiesel de razão molar óleo/álcool (7:1), que apresentou um teor de água muito elevado. Misturas contendo o éster do ácido graxo, mono, di e triglicerídeos têm viscosidade e densidade mais altas que o éster puro, explica-se a viscosidade elevada do biodiesel de 9,3 mm/s², que está fora dos padrões da ANP, assim como seu teor de água.

Tabela 10. Viscosidade e teor de água dos produtos

Razão molar (Metanol/óleo)	Viscosidade cinemática (mm s⁻²)	Teor de água (mg kg⁻¹)
(7:1)	9,30	776
(6:1)	4,7	337

6 CONCLUSÃO

A avaliação dos parâmetros condicionais da reação para produção de biodiesel metílico de óleo de palma via catálise enzimática por *Callera trans L* se mostra como um caminho para se desenvolver um método alternativo para produção de biocombustível que atenda requisitos específicos da ANP.

A produção de um biodiesel de 97% de pureza (dentro da especificação da ANP) e com um rendimento de 90%, é possível desde que a dosagem de álcool seja cuidadosamente administrada, para que as condições do meio reacional sejam menos agressivas ao catalisador.

O sistema entra em equilíbrio cinético, no qual as parcelas de ácidos graxos não são mais convertidas, o que explica a alta acidez de 4,9 mgKOH g⁻¹ para a razão de (6:1)

A reação (7:1) evidencia um feito negativo do excesso de álcool no sistema cujo teor de éster foi de 59%, fator limitante no desempenho da enzima e conseqüentemente na conversão das parcelas de mono e diacilgliceróis

7 TRABALHOS FUTUROS

É importante buscar, uma forma de eliminar a acidez residual, proveniente dos ácidos graxos não convertido devido ao equilíbrio cinético que o sistema atinge.

Uma forma de melhorar o processo global deve, portanto, ser a melhoria da atividade do catalisador sobre estes substratos. Isto pode ser feito através da identificação de um catalisador com uma atividade específica mais elevada nesses substratos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANP, **Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>> Acessado em 25/10/2015

AL-ZUHAIR,S. Production of biodiesel by lipase-catalyzed transesterification of vegetable oils: A kinetics study. **Biotechnol Prog**, v.21, p.1442–1448. 2005

AL-ZUHAIR,S. Production of biodiesel: Possibilities and challenges. **Biofuel, Bioprod Biorefin**,v.1,p.57–66. 2007

ANTCZAK, M. S.; KUBIAK, A.; ANTCZAK, T.; BIELECKI, S. Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. **Renewable Energy**, v. 34, n. 5, p. 1185-1194, 2009

BARBOSA, D. M.; NAOE, L. K.; ZUNIGA, A. D. G. **Avaliar o teor de lipídios em sementes de soja cultivadas no Estado de Tocantins**. In: 14º Jornada de Iniciação Científica da Unitins. Anais... UNITINS, Palmas TO, p.32-37. 2007.

BARCELOS, E.; NUNES, C. D. M.; CUNHA, R. N. V. Melhoramento genético e produção de sementes comerciais de dendzeiro. In: Viégas, I. de J. M.; MÜLLER, A. A. **A cultura do dendzeiro na Amazônia Brasileira**. Belém: Embrapa Amazônia Oriental/Manaus, p. 145-174, 2000.

BENEVIDES, M. S. **Estudo sobre a produção de biodiesel a partir de oleaginosas e análise de modelos cinéticos do processo de transesterificação via catálise homogênea**. 2011 75f. Trabalho de conclusão de curso (bacharel em ciências) – Universidade Federal do Semiárido. Angicos- RN. .

BIODIESELBR. **O que é Biodiesel?** Disponível em <<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel.htm>>. Acesso em: 23/10/2015, 11h15min

BONATO, P. S.; COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L. **Introdução a métodos cromatográficos**. 7ª ed. Campinas: UNICAMP. 2006.

BORA, P.S, ROCHA, R.V.L.M. A, NARAIN N, MOREIRA-MONTEIRO, MOREIRA R.A: Characterization of principal nutritional components of Brazilian oil palm (*Elaeis guineensis*) fruits. **Bioresource Technology**, Palampur, n 87, p 1–5, 2003

BRACCO, U.; DIEFFENBACHER, A.; KOLAROVIC, L.: Frying performance of palm oil liquid fractions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, n.1, vol.58, p. 6-12, 1981.

BRUNSCHWING, C; MOUSSAVOU, W; BLIN, J. Use of ethanol for biodiesel production. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 38, p. 283-301, 2012.

CESARINI, S; DIAZ, P; NIELSEN,B.P.M .Exploring a new, soluble lipase for FAMES production in water-containing systems using crude soybean oil as a feedstock. **Process Biochemistry**. Vol 48, p. 484–487, 2013

COSTA, V. E. U. ; AMORIN,H.L.N. **O emprego de lipases como agentes de resolução cinética de enantiômeros em síntese orgânica: aspectos gerais sobre a influência do solvente**. Química Nova. 1999;22(6):863–873.

ESPINDOLA, S. M. C. G.; CAVALCANTE, A. K.; GONÇALVES, D. A. R. **Avaliação do teor de óleos e da produtividade em linhagens de soja para cultivo no Cerrado**. In: IX Simpósio Nacional Cerrado e II Simpósio Internacional Savanas Tropicais. Anais... Embrapa Brasília-DF. CD-ROM 1. 2008.

FJERBAEK, L.; CHRISTENSEM, K.V.; NORDDAHL. A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, n. 5, p.1298-1315, 2008.

FEDOSOV S.N.; BRASK J.; PEDERSEN A.K.; NORDBLAD, M.; WOODLEY ,J.M.;XU, X. Kinetic model of biodiesel production using immobilized lipase *Candida antarctica* lipase B. **J Mol Catal B Enzym** v.85 p.156–168, . 2012

FERWERDA, J. D. Ecophysiology of the african oil palm. In: Alvim P. de (Coord.) **Ecophysiology of tropical crops**. Ilhéus: Ceplac v.2, p.1-49. 1975.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils- Review. **Journal Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405-416, 2001

GANDHI, N. N. **Journal of The American Oil Chemists Society** 1997, 74, 621-634.
Harding, K. G.; Dennis, J. S.; von Blottnitz, H.; Harrisona, S. T. L. **Journal of Cleaner Production** 2007, 16, 1368-137

GHAFFARI-MOGHADDAM,M; ESLAHI,H; AYDIN Y,A; SALOGLU, D. Enzymatic processes in alternative reaction media: a mini review. **J Biol Methods** . v2(3). doi: 10.14440/jbm.2015

HASEEB, A. S. M. A.; SIA, S. Y.; FAZAL, M. A.; MASJUKI, H. H. Effect of temperature on tribological properties of palm biodiesel. **Energy**, v. 35, p. 1460–1464, 2010b

HERMANSYAH, H.; WIJANARKO, A.; KUBO, M.; SHIBASAKI-KITAKAWA.; YONEMOTO, N. Rigorous kinetic model considering positional specificity of lipase for enzymatic stepwise hydrolysis of triolein in biphasic oil–water system. **Bioprocess Biosyst Eng** 33:787–796. 2010.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blücher, 2006

KNOTHE, G .; DUNN, M.O. Biodiesel: The Use of Vegetable Oils and Their Derivatives as Alternative Diesel Fuels, publicação do **Center for Agricultural Utilization Research, Department of Agriculture**, Peoria,2005.

KNOTHE, G. Historical perspectives of oil-based diesel fuels vegetables. **A & G**, v. 12, n. 2 2001.

KUCEK, Karla Thomas; **Otimização da transesterificação etílica do óleo de soja em meio alcalino**. 2004, 107f. Dissertação, Setor de ciências exatas, universidade Federal do Paraná, Curitiba

KULSCHEWSKI, T; SASSO, F; SECUNDO, F; LOTTI, M; PLEISS,J. Molecular mechanism of deactivation of C. antarctica lipase B by methanol. **J Biotechnol** 168: 462–469. 2013.

LAGARES, F.T. Biodiesel e proposta de um novo marco regulatório : obstáculos e desafios.**Núcleo de estudos e pesquisa do senado**. ISSN 1983-0645. 2012.

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

LOURENÇO, L. M.. **Desenvolvimento de método de determinação de glicerol livre em biodiesel utilizando a técnica de varredura sucessiva de potencial**. 2009. 120 f. Tese de Doutorado – Instituto de Química, Universidade Estadual Paulista. Araraquara: [s.n], 2009.

MAGALHÃES, S.P. **Estudo de modelos cinéticos para a reação de transesterificação enzimática de óleos vegetais**. 2010. 134f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química. Rio de Janeiro- RJ.

MARANGONI,A. Lipases: Structure,function and properties.In:KuoTM, Gardner HW, editors **Lipid biotechnology**. New York, NY: Marcel Dekker, Inc. p 402–435. 2002

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

MAPA. **Anuário Estatístico da Agroenergia - 2010**. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento– Brasil, 2011. 160p

MATOS, P. N. **Fauna do Solo, Fungos Micorrízicos Arbusculares e Bactérias Diazotróficas em Áreas de Mineração de Bauxita no Noroeste do Pará Revegetadas com Dendê**. 2009.58f .Seropédica, RJ: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro.

MA, F., HANNA, M. A., Biodiesel Production: A Review. **Bioresource Technology**, 70, p. 1-15, 1999.

MALASIAN PALM OIL COUNCIL –MPOC – **Basic Background Information about Palm Oil**, Malasian-1991. Disponível em <http://mpoc.mls>. Acesso em: 15 de setembro de 2015.

MARTINS, C. G. **Transesterificação de óleos vegetais**, SP: Dissertação – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de Química,2006.

MORETTO,E.; FETT,R.**Tecnologia de gordura e óleos vegetais**.150p.Rio de Janeiro,Varela,1998 .

MYBIODIESEL. History of biodiesel. disponível em <<http://www.mybiodiesel.com/biodiesel-history.php>>. Acesso em: 01/04/2015, 11:17.

NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger. **Principles of Biochemistry**; Worth Publishers: New York, 2000.

NORDBLAD, M.; V SILVA, T.L.; NIELSEN, P.M.; WOODLEY, J.M. Identification of Critical Parameters in Liquid Enzyme-Catalyzed Biodiesel Production. **Biotechnology and Bioengineering**, Vol. 9999, No. xxx, 2014

PÁDUA, M. S. **Germinação in vitro, indução e caracterização de massas pró-embriogênicas de dendzeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.)**. 2012. 120f. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia Vegetal), Universidade Federal de Lavras. Lavras-MG.

PARENTE, E.J.S. **Uma Aventura Tecnológica Num País Engraçado**, Unigráfica, Fortaleza, (2003).

PILAREK, M.; SZEWCZYK, K.W. Kinetic model of 1,3-specific triacylglycerols alcoholysis catalyzed by lipases. **J Biotechnol**, v.127:7p.36-44.2007

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

PORTELA, H. E. **Avaliação técnico-econômica de um empreendimento produtivo de biodiesel**. 2007. 208f. Dissertação (Mestrado em Gerenciamento e Tecnologias Ambientais no Processo Produtivo), Universidade Federal da Bahia. Salvador-BA

PRICE, J.; HOFMANN; Silva, V.T.L; NORDBLAD, M; WOODLEY, J.M; HUUSOM, J. Mechanistic Modeling of Biodiesel Production Using a Liquid Lipase Formulation. Published online September 16, 2014 in **Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)**

QUINTELLA, C.M.; TEIXEIRA, L.S.G.; KORN, M.G.A; COSTA NETO, P.R.; TORRES, E.A.; CASTRO, M.P.; JESUS, C.A. **Cadeia do biodiesel da bancada à indústria: uma visão geral com prospecção de tarefas e oportunidades para P&D&I**. Química Nova, v. 32, n. 3, p. 793-808, 2009

RAMOS, L. P.; KUCEK, K. T.; DOMINGOS, A. K.; WILHELM, H. M. Biodiesel. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 31, n. 2, p. 28-37, 2003

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B.: Assesment of Provitamin A contents of food – the Brazilian experience. **Journal of food composition and analysis**, n. 9, p. 196 – 230, 1996.

SAMBANTHAMURTHI, R.; SUNDRAM, K.; TAN, Y. A. Chemistry and biochemistry of palm oil. **Progress in Lipid Research**, v.39, n.6, p.507-558. 2000.

SCHUCHARDT, U.; SERCHEL, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of vegetable oils: A review. **Journal of Brazilian Chemical Society**, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SHUERA, K.; KAWAMOTO, Y.; FUJJI, KOHDA, J.; NAKANO, Y. YANO, T. Biological treatment of wastewater discharged from biodiesel fuel production plant with alkali-catalyzed transesterification. **Journal Bioscience and Bioengineering**, v. 100, n.4, p.437-442, 2005.

SUAREZ, P.A.Z. SANTOS, A.L.F; RODRIGUES, J.P; ALVES, M.B. **Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los**. Química Nova, v.32, n.3, p. 768-775, 2009.

SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. 2000. Triglycerides-based Diesel Fuels. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. v.4, p.111-13. 2000

TOFTGAARD PEDERSEN, A.; NORDBLAD, M.; NIELSEN P.M.; WOODLEY J.M. 2014. Batch production of FAEE-biodiesel using a liquid lipase formulation. **J Mol Catal B Enzym** 105:89–94.

VENTURIERI, A.; FERNANDES, W. R.; BOARI, A. de J.; VASCONCELOS, M. A. **Relação entre ocorrência do amarelecimento fatal do dendzeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) e variáveis ambientais no estado do Pará**. In: Simpósio Brasileiro de Sensoriamento Remoto, Natal, INPE, p.523-530. 2009

VAN GERPEN, J., Biodiesel Processing and Production. **Fuel Processing Technology**, 86, p. 1097-1107, 2005.

VAZ, Madalena; CHOUPINA, Altino. Lipases: Biocatalizadores da Hidrólise de Triacilgliceróis. **Revista Eletrônica de Biologia**. v. 5, p 42-58, 2012.

VOET, D.; Voet, J. G. **Biochemistry**; John Wiley & Sons: Hoboken, 2004.

ZHOU ,H.; LU, H.; LIANG, B. 2006. Solubility of multicomponent systems in the biodiesel production by transesterification of *Jatropha curcas L.* oil with methanol. **J Chem Eng Data** 51:1130–1135

ANEXOS

ANEXO A.1 RDC N° 482, 23.09.1999-DOU, 13.10.1999. Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ÓLEO OU GORDURA DE PALMA

1. DESCRIÇÃO

1.1. Definição: Óleo ou gordura de palma é o óleo ou gordura comestível obtido do mesocarpo de frutos da *Elaeis guineensis* (palmeira) através de processos tecnológicos adequados.

1.2. Classificação:

1.2.1. Óleo ou gordura de palma: óleo ou gordura obtidos pelos processos de extração e refino.

1.2.2. Óleo ou gordura de palma bruto ou Azeite de dendê: óleo ou gordura obtidos pelo processo de extração.

1.2.3. Óleo ou gordura de palma virgem: é o óleo ou gordura obtidos unicamente por processos mecânicos ou outros meios físicos e que não tenha sido submetido a outro tratamento que não a lavagem, decantação, centrifugação e filtração.

1.3. Designação

O produto deve ser designado de acordo com a sua classificação, item 1.2.

2. COMPOSIÇÃO E REQUISITOS

2.1. Composição

. Ingrediente Obrigatório: óleo ou gordura de palma.

2.2. Requisitos

2.2.1. Características Sensoriais:

2.2.1.1. Aspecto: límpido e isento de impurezas a 50 oC

2.2.1.2. Cor: característica.2.2.1.3. Odor: característico.2.2.1.4. Sabor: característico.2.2.2.

2.2.2. Características Físicas e Químicas:

2.2.2.1. Densidade relativa, 50oC/20oC.....	0,891 - 0,899
2.2.2.2. Índice de refração (n D 50).....	1,454 - 1,456
2.2.2.3. Índice de saponificação.....	190 - 209
2.2.2.4. Índice de iodo (Wijs).....	50 - 60
2.2.2.5. Matéria insaponificável, g/100g.....	Máximo 1,2
2.2.2.6. Acidez, g de ácido oléico/100g	
. óleo refinado.....	Máximo 0,3
. óleo bruto.....	Máximo 5,0
. óleo virgem	Máximo 5,0
2.2.2.7. Índice de peróxido, meq/kg.....	Máximo 10
2.2.2.8. Carotenóides totais, mg β caroteno/kg	
. óleo de palma bruto ou azeite de dendê	500 - 2000

2.2.2.9. Composição de ácidos graxos

Ácido graxo	Nomenclatura	g/100g
C 12:0	Láurico	< 0,4
C 14:0	Mirístico	0,5 - 2,0
C 16:0	Palmítico	35,0 - 47,0
C 16:1	Palmitoléico	< 0,6
C 18:0	Esteárico	3,5 - 6,5
C 18:1	Oléico	36,0 - 47,0
C 18:2	Linoléico	6,5 - 15,0
C 18:3	Linolênico	< 0,5
C 20:0	Araquídico	< 1,0

ANEXO A.2 – Resolução Nº 45 24.8.2014 - DOU 26.8.2014. Agência nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.

REGULAMENTO TÉCNICO ANP Nº 3/2014

1. Objetivo

Este Regulamento Técnico aplica-se ao biodiesel nacional ou importado e estabelece a sua especificação.

2. Normas Aplicáveis

A determinação das características do biodiesel deverá ser feita mediante o emprego das normas da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT), das normas internacionais da "American Society for Testing and Materials" (ASTM), da "International Organization for Standardization" (ISO) e do "Comité Européen de Normalisation" (CEN).

Os dados de repetibilidade e de reprodutibilidade fornecidos nos métodos relacionados neste Regulamento devem ser usados somente como guia para aceitação das determinações em duplicata do ensaio e não devem ser considerados como tolerância aplicada aos limites especificados neste Regulamento.

A análise do produto deverá ser realizada em amostra representativa obtida segundo os métodos ABNT NBR 14883 - Petróleo e produtos de petróleo - Amostragem manual, ASTM D 4057 - Practice for Manual Sampling of Petroleum and Petroleum Products ou ISO 5555 - Animal and vegetable fats and oils - Sampling.

As características constantes da Tabela I de Especificação do Biodiesel deverão ser determinadas de acordo com a publicação mais recente dos seguintes métodos de ensaio, com exceção ao método proposto pela norma EN 12662, para o qual deve ser utilizada a versão de 1998 ou 2008:

(Nota)

Tabela I - Especificação do Biodiesel

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO		
			ABNT NBR	ASTM D	EN/ISO
CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE			
Aspecto	-	LII (1) (2)	-	-	-
Massa específica a 20° C	kg/m ³	850 a 900	7148 14065	1298 4052	EN ISO 3675 EN ISO 12185
Viscosidade Cinemática a 40°C	mm ² /s	3,0 a 6,0	10441	445	EN ISO 3104
Teor de água, máx.	mg/kg	200,0 (3)	-	6304	EN ISO 12937
Contaminação Total, máx. (13)	mg/kg	24	15995	-	EN12662 (5)
<i>(Nota)</i>					
Ponto de fulgor, mín. (4)	°C	100,0	14598	93	EN ISO 3679
Teor de éster, mín	% massa	96,5	15764	-	EN 14103 (5)
Cinzas sulfatadas, máx. (6)	% massa	0,020	6294	874	EN ISO 3987
Enxofre total, máx.	mg/kg	10	15867	5453	EN ISO 20846 EN ISO 20884
Sódio + Potássio, máx.	mg/kg	5	15554 15555 15553 15556	-	EN 14108 (5) EN 14109 (5) EN 14538 (5)
Cálcio + Magnésio, máx.	mg/kg	5	15553 15556	-	EN 14538 (5)
Fósforo, máx. (7)	mg/kg	10	15553	4951	EN 14107 (5) EN 16294 (5)
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx. (6)	-	1	14359	130	EN ISO 2160
Número Cetano (6)	-	Anotar	-	613 6890 (8)	EN ISO 5165
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C	(9)	14747	6371	EN 116
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,50	14448 -	664 -	EN 14104 (5)

ANEXO A3.a

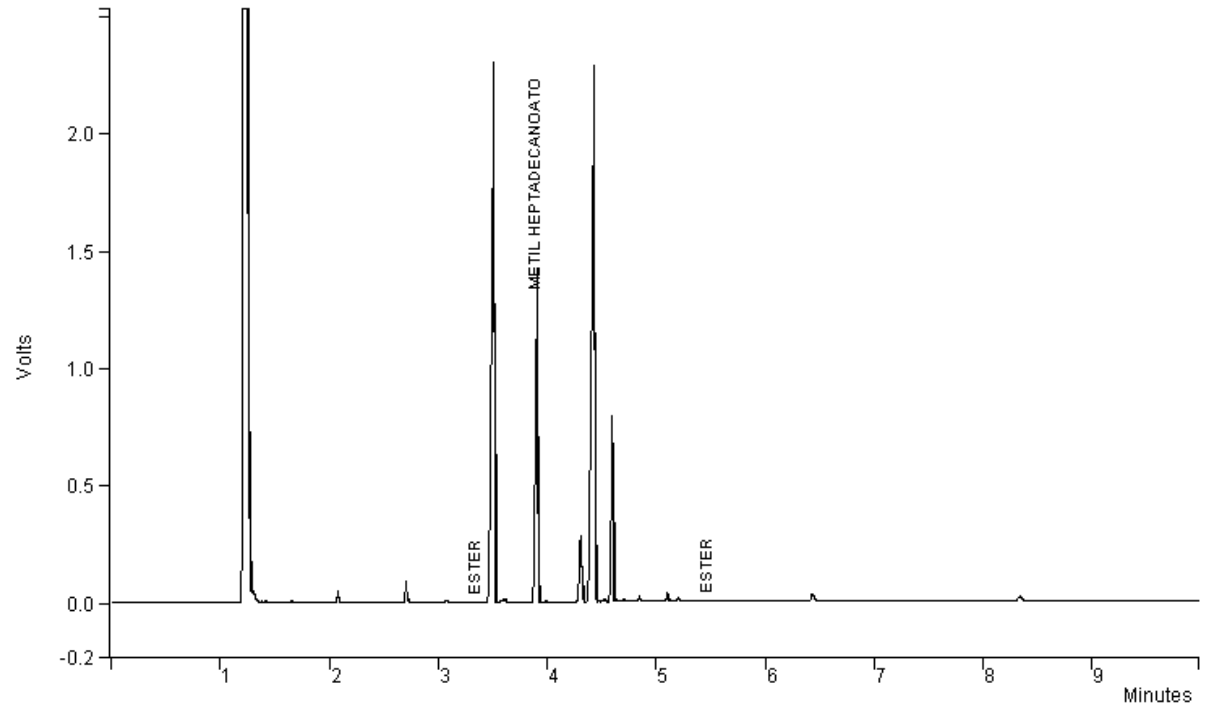


Figura 10. Cromatograma do biodiesel de 97% de pureza

ANEXO A3.b

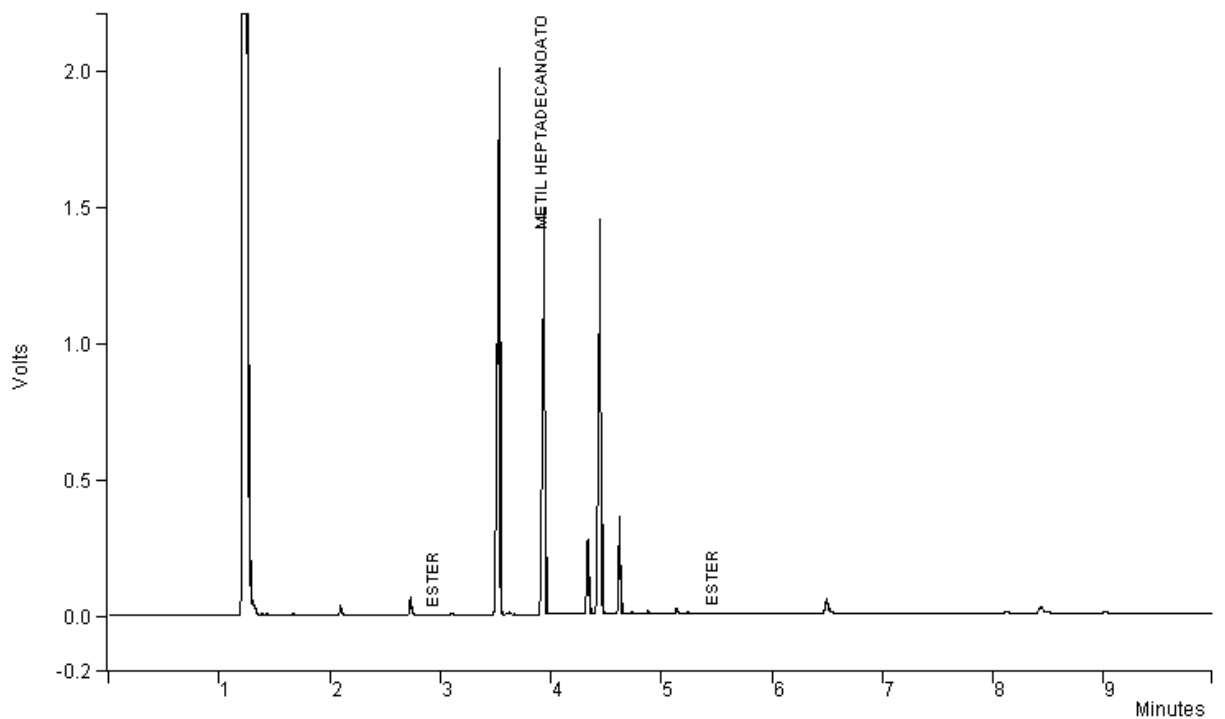


Figura 11. Cromatograma do biodiesel de 59,5% de pureza

