

República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) PI 1103051-8 A2



* B R P I 1 1 0 3 0 5 1 A 2 *

(22) Data de Depósito: 03/06/2011
(43) Data da Publicação: 02/07/2013
(RPI 2217)

(51) Int.Cl.:
C12P 7/06
C12R 1/39
C12R 1/685
C12R 1/845
C12R 1/785
C10L 1/02

(54) Título: PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BODIESEL E BODIESEL OBTIDO POR TAL PROCESSO

(73) Titular(es): Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, União Brasileira de Educação e Assistência - Mantenedora da PUC RS, União Brasileira de Educação e Assistência - Mantenedora da PUC RS

(72) Inventor(es): Breno Amaro da Silveira Neto, Felipe Prehn Falcão, Jairton Dupont, Marlise Araújo dos Santos, Thais Russomano

(57) Resumo: PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BODIESEL E BODIESEL OBTIDO POR TAL PROCESSO. A presente invenção proporciona um processo de preparação de biodiesel por reação de transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal através de catálise enzimática sob microgravidade, preferencialmente pela utilização de clinostato 3D. Na presente invenção são providas as condições para da transesterificação ou alcoólise e esterificação de diversos óleos e gorduras de origem vegetal ou animal, contendo triacilglicerídeos derivados de diferentes ácidos graxos, com diferentes graus de insaturação e tamanho de cadeia, utilizando diversos álcoois, tais como metanol, etanol, propanol e iso-amílico: Os catalisadores utilizados podem ser lipases comerciais, desde que submetidas às condições de microgravidade simulada.

Relatório Descritivo de Patente de Invenção

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL E BIODIESEL OBTIDO POR TAL PROCESSO

5 **Campo da Invenção**

A presente invenção se situa nos campos da engenharia, química e energia. Mais especificamente, a presente invenção proporciona um processo de preparação de biodiesel por reação de transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal, através de catálise enzimática sob
10 condições de microgravidade simulada, preferencialmente pela utilização de um clinostato 3D. Na presente invenção, a produção de biodiesel envolve a transesterificação ou alcoólise de diversos óleos e gorduras de origem vegetal ou animal, contendo triacilglicerídeos derivados de diferentes ácidos graxos, com diferentes graus de insaturação e tamanho de cadeia, utilizando diversos
15 álcoois, tais como metanol, etanol, propanol e iso-amílico. Os catalisadores utilizados podem ser lipases comerciais, desde que submetidos a condições de microgravidade simulada.

Antecedentes da Invenção

20 O interesse tecnológico na obtenção de ésteres derivados de ácidos graxos e álcoois, seja por reação de esterificação direta de ácidos graxos como álcool de cadeia curta ou por transesterificação de triacilglicerídeos com álcoois de cadeia curta, advém da possibilidade de usá-los como substitutos parciais ou totais do diesel de petróleo como combustível para motores a combustão
25 interna a diesel (A. C. Pinto, L. L. N. Guarieiro, M. J. C. Rezende, N. M. Ribeiro, E. A. Torres, W. A. Lopes, P. A. Pereira, e de Andrade, J. B. In: J. Braz. Chem. Soc. 16 (2005) 1313). A mistura de ésteres assim obtida, largamente conhecida como biodiesel, pode ser utilizada diretamente em motores diesel ou misturados ao combustível fóssil em qualquer proporção, diminuindo a emissão
30 de poluentes e melhorando a queima nos motores.

A reação de transesterificação ocorre em três etapas consecutivas e reversíveis, com a formação de diacilglicerídeos e monoacilglicerídeos como intermediários, e como produto desejado moléculas de ésteres. Apesar da estequiometria geral da equação requerer três mols do álcool para cada mol de triacilglicerídeo, a reversibilidade das reações faz necessário um excesso de álcool no meio reacional para promover um aumento no rendimento do éster. Sabe-se, ainda, que na presença de água é também verificado o equilíbrio entre os diferentes ésteres e seus respectivos ácidos graxos e álcoois (glicerina e/ou álcool).

A primeira patente mundial a respeito da etanolise de óleo de dendê foi depositada na Bélgica (Chavanne, G.; BE 422,877, 1937 (CA 1938, 32, 4313)), a qual utilizava como catalisadores bases fortes de Brønsted, como os hidróxidos e alcóxidos de metais alcalinos. A principal limitação deste sistema catalítico reside no fato deste não ser aplicável a óleos ou gorduras que apresentam alto índice de acidez ou alta concentração de ácidos graxos livres. Isto se deve à reação indesejável de saponificação que consome o catalisador e gera sabões em grandes quantidades, levando a formação de emulsões estáveis que impedem a separação e purificação do biodiesel. No entanto, esses catalisadores básicos tradicionais são largamente utilizados na indústria para obtenção de biodiesel por serem de baixo custo e apresentarem alta atividade.

A transesterificação catalisada por ácidos fortes de Brønsted foi proposta inicialmente nos Estados Unidos (Keim, G. I.; US 2,383,601; 1945), sendo os principais exemplos os ácidos sulfúrico, fosfórico, clorídrico e organosulfônicos. No entanto, estes processos possuem várias restrições industriais por serem muito agressivos aos equipamentos e por possuírem atividade catalítica até 4000 vezes menor do que dos catalisadores básicos (B. Freedman, E. H. Pryde e T. L. Mounts, In: J. Am. Oil Chem. Soc. 6 (1984) 1638).

Em decorrência dos problemas associados à catálise ácida, inúmeras pesquisas têm procurado desenvolver sistemas catalíticos ácidos que sejam ativos como os básicos. Uma alternativa bastante interessante é o uso de

ácidos de Lewis. Recentemente, foram testados complexos homogêneos, com caráter ácido de Lewis, obtidos com cátions metálicos, como Sn^{+2} , Cd^{+2} , Zn^{+2} e Pb^{+2} , e ligantes oxigenados bidentados, como 3-hidroxi-2-metil-4-pironato ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_3$) (F. R. Abreu, D. G. Lima, E. H. Hamú, S. Einloft, J. C. Rubim e P. A. Z. Suarez, In: J. Am. Oil Chem. Soc. 80 (2003) 601; e F. R. Abreu, D. G. Lima, E. H. Hamú, C. Wolf e P. A. Z. Suarez, In: J. Mol. Catal. A: Chem. 209 (2004) 29) e carboxilatos (M. Di Serio, R. Tesser, M. Dimiccoli, F. Cammarota, M. Nastasi e E. Santacesaria, Em: J. Mol. Catal. A: Chem. 239 (2005) 111) com bons rendimentos. Contudo, o alto custo e toxicidade desses catalisadores homogêneos aliados a dificuldade de sua remoção completa do biodiesel impossibilitam a sua recuperação total e o seu reuso. Este fato impede o seu emprego industrial como catalisador para a reação de transesterificação de óleos vegetais.

Enfim, apesar de serem os métodos mais utilizados para a obtenção de biodiesel, estas abordagens apresentam várias desvantagens e acarretam problemas ao meio ambiente que justificam a busca por novos sistemas catalíticos que sejam mais eficientes e gerem menos quantidade de resíduos.

A catálise enzimática é uma alternativa aos métodos anteriormente expostos, visto que enzimas são catalisadores naturais encontrados em seres vivos e biodegradáveis. As reações de transesterificação ocorrem em temperatura ambiente com elevada economia energética. As enzimas são catalisadores eficientes em meios aquosos e não aquosos, permitindo que ácidos graxos formados por hidrólise ou provenientes do próprio óleo sejam convertidos em seus respectivos ésteres. Outro aspecto interessante associado à produção de biodiesel via catálise enzimática está na fácil recuperação do glicerol (simples filtração) quando comparado as demais metodologias (H. Fukuda, A. Kondo, H. Noda J. of Bioscience and Bioeng. 92 (2001) 405-416).

Os primeiros estudos de alcólise enzimática de triglicerídeos de vários óleos e gorduras com o objetivo de produzir biodiesel usaram a lipase imobilizada R. michei levando a conversões superiores a 95% em metil e etilésteres (L. A. Nelson, A. Foglia, W. N. Marmer Em: J. Am. Oil Chem. Soc.

73 (1996), 1191-1195). No entanto, esta metodologia apresenta tempos reacionais elevados, que dificultam a sua aplicação em processos produtivos de biodiesel.

O uso de imobilizadores pode ser uma alternativa para solucionar esta dificuldade, dentre estes cabe salientar os líquidos iônicos (M. Gamba, A. A. M. Lapis e J. Dupont Em: *Adv. Synth. Catal.* 350 (2008), 160 – 164).

Tendo em mente a necessidade de aumentar a atividade enzimática e, conseqüentemente, a velocidade da reação de transesterificação, o uso de um equipamento chamado clinostato, que simula um sistema de migrogravidade, pode ser uma outra alternativa válida para promover este aumento na velocidade reacional. Este fenômeno pode estar associado ao aumento da dispersão das moléculas de triglicerídeos, normalmente densas e apolares, em solventes polares como etanol ou metanol. Tal fato pode facilitar a formação do complexo enzima substrato. Cálculos teóricos mostram que o efeito da migrogravidade simulada favorece as interações entre substrato e os sítios ativos presentes na cavidade enzimática (M. Maccarrone, A. Finazzi-Agro Em: *FEBS Letters*, 540 (2001), 80). Estes fatos associados indicam que enzimas podem atuar de forma eficiente em interfaces de compostos polares e apolares com maior eficiência em condições de migrogravidade simulada do que quando submetidas à ação gravitacional normal.

De uma forma sucinta, mostrou-se que a literatura apresenta uma variedade de sistemas catalíticos homogêneos ativos para a transesterificação ou alcoólise de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal, seja utilizando ácidos ou bases de Bronsted ou Lewis. A catálise heterogênea também foi exemplificada através do uso de enzimas. Porém, ainda não é conhecido nenhum sistema catalítico que possibilite uma fácil recuperação e reutilização dos catalisadores, pouca geração de resíduos e que forneça o glicerol em condições de reaproveitamento sem um número elevado de etapas.

A presente invenção consiste no uso de enzimas como catalisadores para a transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais em migrogravidade, preferencialmente simulada por um clinostato. Este processo

visa efetuar a alcoólise de óleos num processo mais efetivo e que permite a reutilização do catalisador (enzima), eliminar a geração de resíduos aquosos ácidos ou básicos (observados nos processos tradicionais), recuperação fácil e eficiente do glicerol e acelerar a velocidade de reação a fim de tornar o processo viável para obtenção do biodiesel.

No âmbito patentário, foram localizados alguns documentos relevantes que serão descritos a seguir.

O documento US 2007/0199238 descreve método para produção de ésteres de alquil de ácido graxo compreendendo a irradiação uma emulsão com energia ultrassônica. A presente invenção difere desse documento por não compreender a irradiação com energia ultrassônica, mas, sim, a utilização de microgravidade para a obtenção de biodiesel.

O documento WO 05/016560 descreve um aparato para a produção de ésteres de ácido graxo compreendendo um tanque com ácido graxo; um segundo tanque contendo solução alcalina; terceiro tanque contendo álcool; câmara de reação para transesterificação, separador por gravidade natural e centrífuga. A presente invenção difere desse documento por não compreender um aparato com separador por gravidade natural, mas, sim, a utilização de microgravidade para a obtenção de biodiesel.

O documento US 4,791,162 compreende a preparação de partículas de látex de tamanho grande e monodispersas, compreendendo a etapa de polimerização em um ambiente de microgravidade. A presente invenção difere desse documento por não tratar da produção de partículas de látex em ambientes de microgravidade, mas, sim, de biodiesel em uma ambiente de microgravidade.

Do que se depreende da literatura pesquisada, não foram encontrados documentos antecipando ou sugerindo os ensinamentos da presente invenção, de forma que a solução aqui proposta, aos olhos dos inventores, possui novidade e atividade inventiva frente ao estado da técnica.

Sumário da Invenção

Em um aspecto, a presente invenção tem como objeto a preparação e produção de biodiesel através de reação de transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal contendo diferentes graus de insaturação e tamanho de cadeia utilizando catálise enzimática em microgravidade.

É um objeto da presente invenção o processo de produção de biodiesel compreendendo as etapas de:

a) realizar a transesterificação ou esterificação utilizando catálise enzimática em microgravidade;

b) separar o biodiesel do material obtido em a).

Em uma realização preferencial, o ambiente de microgravidade é simulado utilizando um clinostato.

É, adicionalmente, um objeto da presente invenção o biodiesel obtido através desse processo de produção.

Estes e outros objetos da invenção serão imediatamente valorizados pelos versados na arte e pelas empresas com interesses no segmento, e serão descritos em detalhes suficientes para sua reprodução na descrição a seguir.

Descrição Detalhada da Invenção

Os exemplos aqui mostrados têm o intuito somente de exemplificar uma das inúmeras maneiras de se realizar a invenção, contudo sem limitar, o escopo da mesma.

Processo de produção de biodiesel

O processo de produção de biodiesel da presente invenção compreende as etapas de:

a) realizar a transesterificação ou esterificação utilizando catálise enzimática em microgravidade;

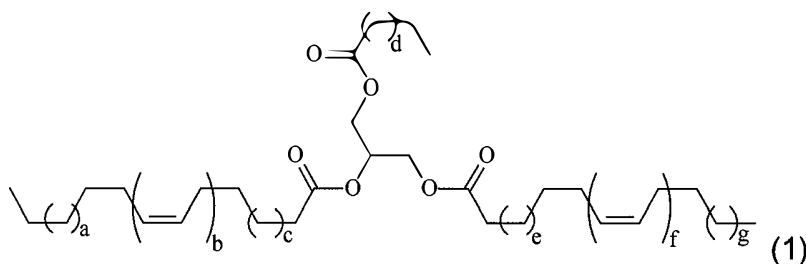
b) separar o biodiesel do material obtido em a).

Em especial, o processo de obtenção de biodiesel descrito na presente invenção é inovador e visa contornar diversos problemas encontrados no

estado da técnica com amplas vantagens em termos operacionais e ecológicos. A tecnologia aqui descrita é diferente das existentes, sendo muito mais econômica em termos energéticos e operacionais relacionados à construção de reatores. Apresenta uma alta eficiência na obtenção do biocombustível com catalisadores biodegradáveis e reutilizáveis e não gera grande quantidade de resíduos, sendo, portanto um processo biologicamente correto.

Em especial, o processo ora proposto é baseado na obtenção de biodiesel por transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal contendo diferentes graus de instauração e tamanho de cadeia foram submetidas à microgravidade simulada em presença de lipases.

Os óleos e gorduras de origem vegetal ou animal tal como referidos no presente relatório tipicamente compreendem misturas de diversos compostos, tais como triacilglicerídeos, diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos, ácidos graxos livres, fosfolipídios, sendo os triacilglicerídeos os principais componentes da mistura. Os triacilglicerídeos são derivados de ácidos graxos contendo diferentes graus de instauração, podendo variar de 0 a 5 duplas ligações, e tamanho de cadeia, contendo de 4 a 30 átomos de carbono, e podem ser representados pela fórmula (1):



onde a, b, c, d, e, f e g são iguais ou diferentes e podem assumir valores de 0 a 27.

Os álcoois utilizados para a transesterificação contem de 1 a 8 átomos de carbono, lineares ou ramificados. Assim, os agentes de transesterificação ou alcoólise referidos neste relatório incluem, entre outros, metanol, etanol, *n*-propanol, *iso*-propanol, *n*-butanol, *terc*-butanol, *n*-pentanol, *n*-octanol, *iso*-

amílico e ciclo-hexanol. Pela disponibilidade comercial, o metanol e o etanol são os agentes de alcoólise preferidos.

As enzimas utilizadas são pertencentes à classe das lipases extracelulares e intracelulares podendo ser utilizadas já isoladas ou o próprio organismo das quais elas são isoladas. Em alguns casos, as mesmas podem ser suportadas em outros materiais como sílica, cerâmicas, polímeros, entre outros suportes antes de submetê-las as condições reacionais.

De forma geral, os experimentos foram realizados com as enzimas isoladas, sendo estes os catalisadores na presente invenção. Como exemplo, citamos as seguintes enzimas comerciais: *Candida rugosa*, *Candida antartida*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Mucor javanieus*, *Burkholderia cepacia*, entre outras, bem como a mistura das mesmas. Estas enzimas são disponíveis comercialmente da Aldrich Chemical Co., Amano Enzyme Inc.

Estes sistemas catalíticos apresentam boa estabilidade durante a reação de transesterificação, garantindo um alto grau de reuso, bem como alta atividade para a produção de biodiesel.

Exemplo 1 – Obtenção de biodiesel utilizando microgravidade

A presente invenção compreende um processo de produção de biodiesel por reação de transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal em presença enzimas. Em concretizações preferenciais, os inventores escolheram os sistemas catalíticos formados por lipases intracelulares e extracelulares submetidas a condições de microgravidade, conforme exemplificados no presente relatório.

Em relação à parte experimental, as reações de obtenção do biodiesel por transesterificação ou alcoólise, em escalas maiores, foram conduzidas em frascos de vidro de 250 mL, com agitação produzida pelo clinostato e a temperatura constante de 30°C. Um típico experimento envolveu a proporção de 12,3 g de óleo de soja, 10 mL de etanol 95%, 2,0 g de *Pseudomonas cepacia*.

Os tempos reacionais e a proporção dos produtos foram analisados por cromatografia líquida de alta eficiência. As conversões obtidas foram na faixa de 10-99% para o biodiesel e os tempos reacionais variam de 8-96 horas, sendo as duas variáveis dependentes da lipase, do álcool, da presença ou
5 ausência de um líquido iônico e da quantidade de substrato.

O sistema reacional descrito é trifásico, no qual uma das fases é composta pela enzima e o álcool e a outra composta pelos triglicerídeos no início da reação e após pelo biodiesel (monoésteres). Cabe salientar que por
10 ação do clinostato (microgravidade simulada) o sistema apresenta características visuais semelhantes a de uma emulsão durante a reação.

O processo de purificação do biodiesel consiste na simples separação da fase superior, após decantação. A fase inferior pode ser reutilizada, sendo somente adicionada ao sistema a quantidade estequiométrica do álcool consumido na reação anterior.

15 Após o catalisador começar a perder a atividade, o sistema todo pode ser recuperado e reutilizado em reações posteriores. A enzima é separada do álcool/glicerol por filtração e lavada com água. O álcool pode ser também recuperado por destilação, restando o glicerol. Como exposto, o processo como um todo apresenta excelente reaproveitamento dos reagentes
20 empregados, gerando pouca quantidade de rejeitos e resultados competitivos com as técnicas empregadas atualmente para obtenção do biodiesel.

A seguir a presente invenção será ilustrada por exemplo de concretização preferencial, que não deve ser considerado como limitante do escopo da invenção.

25 Exemplo 1.1 – Realização preferencial

Em um frasco cilíndrico adaptado para o clinostato 3D, 12,3g de óleo foram adicionados, 2,0 g de lipase *Candida antarctica*, e completado o volume com etanol 95% (\approx 10 mL), formando três fases. A reação foi mantida sob ação de microgravidade simulada à temperatura de 20°C durante 24 horas. A
30 mistura foi deixada em repouso para a separação das fases. A fase superior contendo biodiesel foi removida após decantação, obtendo-se um líquido

levemente amarelado com rendimento de 93% e com conversão de 99% determinada por HPLC. A fase inferior foi filtrada separando-se o álcool/glicerol e a enzima, a qual foi lavada com água para a remoção do glicerol. A enzima foi recuperada e reutilizada sem perda na atividade.

- 5 Os versados na arte valorizarão os conhecimentos aqui apresentados e poderão reproduzir a invenção nas modalidades apresentadas e em outras variantes, abrangidos no escopo das reivindicações anexas.

Reivindicações

PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL E BIODIESEL OBTIDO POR TAL PROCESSO

- 5 1. Processo de produção de biodiesel caracterizado por compreender as etapas de:
- a) realizar a transesterificação utilizando catálise enzimática em microgravidade;
 - b) separar o biodiesel do material obtido em a).
- 10 2. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo ambiente de microgravidade ser obtido com o uso de um clinostato.
3. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 1 ou 2 caracterizado pelo fato de que a referida etapa de transesterificação é
- 15 conduzida em temperatura entre 10 e 30°C.
4. Processo de produção de biodiesel de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-3, caracterizado pelo fato de que a referida etapa de incubação em ambiente de microgravidade ser conduzida por um período entre 12 a 36 horas.
- 20 5. Processo de produção de biodiesel de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-4, caracterizado pelo fato de a etapa de catálise compreender lipases intracelulares e/ou extracelulares.
6. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 5 caracterizado pelas enzimas serem opcionalmente aderidas a um suporte.
- 25 7. Processo de produção de biodiesel de acordo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-6, caracterizado pelo pelas enzimas serem obtidas de microorganismos selecionados dentre *Candida rugosa*, *Candida antartida*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus niveus*, *Pseudomonas fluorescens*, *Mucor javanieus*, *Burkholderia cepacia* e combinações dos mesmos.
- 30 8. Processo de produção de biodiesel de acordo de acordo com qualquer uma das reivindicações 1-7, caracterizado pelo álcool ser escolhido do grupo que

compreende metanol, etanol, *n*-propanol, *iso*-propanol, *n*-butanol, *terc*-butanol, *n*-pentanol, *n*-octanol, *iso*-amílico, ciclo-hexanol e combinações dos mesmos.

9. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 8, caracterizado pelo álcool ser metanol e/ou etanol.

5 10. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo óleo ser um óleo e/ou gordura vegetal e/ou animal.

11. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 10, caracterizado pelo óleo ser óleo de soja.

12. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 1, 8 ou 9
10 caracterizado pelo processo de transesterificação compreender de 1,0 a 2,0 gramas de óleo/ml de álcool.

13. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 12 caracterizado pelo fato da etapa de transesterificação compreender 1,23 gramas de óleo/ml de álcool.

15 14. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 1 caracterizado pelo processo de transesterificação compreender de 0,05 a 0,5 gramas de enzima/ml de álcool.

15. Processo de produção de biodiesel de acordo com a reivindicação 14
20 caracterizado pelo processo de transesterificação compreender 0,2 gramas de enzima/ml de álcool.

18. Biodiesel caracterizado por ser obtido através de um processo compreendendo as etapas de:

a) realizar a transesterificação utilizando catálise enzimática em microgravidade; e

25 b) separar o biodiesel do material obtido em a).

Resumo**PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL E BIODIESEL OBTIDO POR TAL
PROCESSO**

5 A presente invenção proporciona um processo de preparação de biodiesel por reação de transesterificação de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal através de catálise enzimática sob microgravidade, preferencialmente pela utilização de clinostato 3D. Na presente invenção são providas as condições para da transesterificação ou alcoólise e esterificação de
10 diversos óleos e gorduras de origem vegetal ou animal, contendo triacilglicerídeos derivados de diferentes ácidos graxos, com diferentes graus de insaturação e tamanho de cadeia, utilizando diversos álcoois, tais como metanol, etanol, propanol e iso-amílico. Os catalisadores utilizados podem ser lipases comerciais, desde que submetidas às condições de microgravidade
15 simulada.