CENTRO UNIVERSITÁRIO FEI
MARINA SAVIOLLI REIS DA SILVA

# ESTUDO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA

São Bernardo do Campo
2018

MARINA SAVIOLLI REIS DA SILVA

# ESTUDO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA

Defesa de Mestrado apresentada ao Centro Universitário FEI, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Orientado pela Profª. Drª. Maristhela Passoni de Araújo Marin.

São Bernardo do Campo

2018

Saviolli Reis da Silva, Marina.
Estudo da produção de biodiesel via catálise enzimática / Marina Saviolli Reis da Silva. São Bernardo do Campo, 2018.
154 p. : il.

Dissertação - Centro Universitário FEI.
Orientadora: Prof.ª Dra. Maristhela Passoni de Araújo Marin.
Coorientador: Prof. Dr. Newton Libanio Ferreira e Prof.ª Dra. Adriana Célia Lucarini .

1. Transesterificação enzimática. 2. Biodiesel. 3. Energias renováveis. 4. Óleo de soja. I. Passoni de Araújo Marin, Maristhela, orient. II. Título.

Elaborada pelo sistema de geração automática de ficha catalográfica da FEI com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

centro universitário FEI

Mestrado

# APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO
# ATA DA BANCA EXAMINADORA

**Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Química**

**PGQ-10**

**Aluno:** Marina Saviolli Reis da Silva **Matrícula:** 416108-9

**Título do Trabalho:** Estudo da produção de biodiesel via catálise enzimática.

**Área de Concentração:** Engenharia Química

**Orientador:** Prof.ª Dr.ª Maristhela Passoni de Araújo Marin

**Data da realização da defesa:** 22/03/2018

ORIGINAL ASSINADA

**Avaliação da Banca Examinadora:**

São Bernardo do Campo, 22 / 03 / 2018.

**MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA**

Prof.ª Dr.ª Maristhela Passoni de Araújo Marin Ass.: _____

Prof. Dr. Luis Fernando Novazzi Ass.: _____

Prof.ª Dr.ª Helga Gabriela Aleme Ass.: _____

A Banca Julgadora acima-assinada atribuiu ao aluno o seguinte resultado:

APROVADO ☒ REPROVADO ☐

**VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO**

**APROVO A VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO EM QUE FORAM INCLUÍDAS AS RECOMENDAÇÕES DA BANCA EXAMINADORA**

_____

Aprovação do Coordenador do Programa de Pós-graduação

_____

Prof. Dr. Ricardo Belchior Torres

Dedico este trabalho a todos aqueles que estiveram ao meu lado ao longo do mestrado e que ajudaram a mim de alguma forma. Em especial, aos meus pais, ao meu irmão, ao meu namorado e à minha prima.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço à minha orientadora, Prof.ª Dr.ª Maristhela Passoni de Araújo Marin, não só pela orientação, apoio e confiança, mas também por todo o carinho e amizade.

Ao Prof. Dr. Newton Libanio Ferreira e à Prof.ª Dr.ª Adriana Célia Lucarini pela co-orientação, dedicação, auxílio e conhecimentos fornecidos. Ao Prof. Dr. Luís Fernando Novazzi pelo direcionamento e colaboração com este trabalho.

Agradeço à comissão de bolsas da FEI e à CAPES pela bolsa concedida e, em especial, ao Prof. Dr. Ricardo Belchior Torres por ter acreditado em mim.

Ainda, um agradecimento especial aos meu pais, Marco e Silvia, ao meu irmão, Gabriel, e à minha família por todo amor, incentivo e apoio.

À minha prima, Paula, por toda a ajuda neste trabalho e, principalmente, por ser minha melhor amiga.

Ao meu namorado por me apoiar e ajudar tanto durante o mestrado, por todos os momentos maravilhosos que compartilhei ao seu lado e simplesmente por ser tão incrível.

# RESUMO

Entre as fontes de energia alternativas ao diesel de petróleo, destaca-se o biodiesel. Atualmente, é produzido a partir de um catalisador homogêneo básico, o que pode gerar problemas ambientais, como o gasto excessivo de água na purificação dos produtos. A fim de propor uma rota mais limpa, o presente trabalho investigou a produção de biodiesel via catálise enzimática, tendo o óleo de soja e o metanol como reagentes e a enzima imobilizada Novozyme 435® como catalisador. Para tal, foram avaliados o uso de cossolventes (neste caso, o *terc*-butanol e o hexano), a adição de água, a razão molar de metanol/óleo, a quantidade de catalisador na reação, a conversão ao longo do tempo, bem como o equilíbrio de fases a partir do programa ASPEN Plus®. Dentre os resultados, viu-se que, do lado dos cossolventes, a uma razão volumétrica de 8:1 de óleo/*terc*-butanol, a conversão atingiu 76%, enquanto que com razão volumétrica de 1:4 de óleo/hexano, a conversão máxima foi de 43%. Sobre a adição de água, verificou-se que, quanto maior a quantidade desta, menor foi a conversão em biodiesel, não favorecendo a reação. Do mesmo modo, observou-se que um excesso de metanol também não facilitou o processo, uma vez que, com razão molar de 3:1 metanol/óleo, a conversão foi de 66%, sendo 10% menor que quando utilizada razão molar de 4:1. Em seguida, averiguou-se que a quantidade de enzima necessária foi de 2% em massa de enzima em relação à de óleo, convertendo 77%, visto que, com valores maiores, a conversão manteve-se a mesma. Já o experimento de conversão no tempo mostrou que foram necessárias 44 horas para uma conversão de 78,6%, entretanto, uma análise econômica poderia determinar o melhor tempo de reação. Por último, a simulação do equilíbrio de fases mostrou que, quanto mais hexano no sistema, maior a concentração de metanol na fase que contém óleo, diminuindo a conversão pelo efeito inibidor que o álcool tem na enzima. Já com o *terc*-butanol, deu-se que, quanto menor a quantidade de cossolvente, maior a concentração de metanol na fase que contém óleo. Apesar do sistema permanecer em duas fases nas condições testadas, a concentração de metanol na faixa que contém óleo é alta o suficiente para se obter boas conversões e baixa o bastante para não desnaturar a enzima. A proposta do processo enzimático, comparado ao alcalino, é vantajoso na separação e purificação dos produtos, não necessita de água de lavagem e nem faz uso de ácido para neutralização, mostrando-se uma rota mais limpa. Além disso, o ciclo de separação tem menor gasto energético, com economia de 233% de água de resfriamento e de 34,4% de energia.


Palavras-chave: Transesterificação enzimática. Biodiesel. Energias renováveis. Óleo de soja.

**ABSTRACT**

Among the alternative sources of energy to diesel oil is biodiesel. Nowadays, it is produced from a basic homogeneous catalyst, which can cause environmental problems, such as excessive waste of water during purification of products. In order to propose a cleaner route, this study investigated the production of biodiesel through enzymatic catalysis, with soybean oil and methanol as reagents and immobilized enzyme Novozyme 435® as catalyst. Thereunto, a variety of tests were made, such as the use of cosolvents (in this case, *tert*-butanol and hexane), the addition of water, the molar ratio of methanol/oil, the amount of catalyst in the reaction, the conversion over time, as well as the phase balancing with ASPEN Plus® software. From the results it was found that, about the cosolvents, at a volume ratio of 8:1 oil/*tert*-butanol, the conversion reached 76%, while at the volumetric ratio of 1:4 oil/hexane, the maximum conversion was 43%. Regarding the addition of water, it was verified that the higher the amount of water, the lower the conversion to biodiesel, not favoring the reaction. Likewise, it was observed that an excess of methanol also did not benefited the process, since a molar ratio of 3:1 methanol/oil, converted 66% to biodiesel, being 10% less than the molar ratio of 4:1. Then, it was found that the appropriate amount of enzyme was 2% by mass of enzyme over oil, converting 77%, being that the conversion remained the same with larger values. The time conversion experiment showed that it took 44 hours for a conversion of 78.6%, however, an economic analysis could determine the best time for the reaction. Finally, the equilibrium of phases simulation showed that the more hexane in the system, the higher the concentration of methanol in the oil-containing phase, reducing the conversion because of the inhibitory effect that alcohol has on the enzyme. With *tert*-butanol, it was found that the lower the amount of cosolvent, the higher the concentration of methanol in the oil-containing phase. Although the system remained in two stages under the tested conditions, the concentration of methanol in the oil-containing phase showed to be high enough to generate good conversions and low enough to not denature the enzyme. The proposed enzymatic process, compared to the alkaline, has advantages in separating and purifying the products, it does not require washing water and neither the use of acid for neutralization, proving to be a cleaner route. In addition, in this case, the separation cycle has lower energy expenditure, with a saving of 233% of cooling water and 34.4% of energy.

Keywords: Enzymatic transesterification. Biodiesel. Renewable energy. Soy oil.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Etapas da reação de transesterificação ..... 24
Figura 2- Gráfico qualitativo de conversão em uma reação de transesterificação ..... 25
Figura 3 - Estruturas secundárias das enzimas ..... 31
Figura 4 - Estrutura terciária das enzimas ..... 32
Figura 5 – Métodos de imobilização de enzimas ..... 33
Figura 6 - Estrutura do centro ativo da lipase (lipase A de *Bacillus subtilis*) ..... 35
Figura 7 - Gráfico da velocidade inicial da reação em função da concentração de substrato .. 41
Figura 8 - Mecanismo de Ping-Pong Bi Bi ..... 43
Figura 9 - Mecanismo proposto por Al-Zuhair, Ling e Jun, 2007 ..... 46
Figura 10 - Fluxograma do processo da produção via catálise homogênea básica ..... 58
Figura 11 - Fluxograma da simulação do equilíbrio de fases ..... 68
Figura 12 - Gráfico do efeito da quantidade de cossolvente na transesterificação ..... 74
Figura 13 - Gráfico do efeito da quantidade de enzima ..... 77
Figura 14 - Gráfico da conversão ao longo do tempo ..... 78
Figura 15 - Diagrama ternário da mistura hexano-metanol-trilinoleína ..... 80
Figura 16 - Diagrama ternário para a mistura *terc*-butanol-metanol-trilinoleína ..... 82
Figura 17 - Fluxograma proposto para a produção de biodiesel via catálise enzimática ..... 84
Figura 18 - Cromatograma do padrão de laurato de metila ..... 100
Figura 19 - Cromatograma do padrão de miristato de metila ..... 100
Figura 20 - Cromatograma do padrão de palmitoleato de metila ..... 100
Figura 21 - Cromatograma do padrão de palmitato de metila ..... 101
Figura 22 - Cromatograma do padrão de ϒ-linolenato de metila ..... 101
Figura 23 - Cromatograma do padrão de linoleato de metila ..... 101
Figura 24 - Cromatograma do padrão de oleato de metila ..... 101
Figura 25 - Cromatograma do padrão de estereato de metila ..... 102
Figura 26 - Curva de calibração do laurato de metila ..... 104
Figura 27 - Curva de calibração do miristato de metila ..... 104
Figura 28 - Curva de calibração do palmitoleato de metila ..... 104
Figura 29 - Curva de calibração do palmitato de metila ..... 105
Figura 30 - Curva de calibração do Gama-Linolenato de metila ..... 105
Figura 31 - Curva de calibração do linoleato de metila ..... 105
Figura 32 - Curva de calibração do oleato de metila ..... 106

Figura 33 - Curva de calibração do estearato de metila ..... 106

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Fórmula molecular dos ácidos graxos ..... 26
Tabela 2 - Composição de ácidos graxos dos óleos ..... 26
Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das diferentes catálises ..... 28
Tabela 4 - Efeito da razão molar ..... 48
Tabela 5 - Efeito de diferentes cossolventes ..... 51
Tabela 6 - Efeito da adição de água ..... 52
Tabela 7 - Efeito da quantidade de enzima adicionada na reação ..... 54
Tabela 8 - Efeito da temperatura ..... 55
Tabela 9 - Volumes dos cossolventes adicionados na reação ..... 64
Tabela 10 - Concentrações da solução de padrões ..... 66
Tabela 11 - Especificações da colune de destilação ..... 70
Tabela 12 - Resultados da influência do teor de água ..... 75
Tabela 13 - Resultados experimentais em diferentes volumes de hexano ..... 81
Tabela 14 - Resultados experimentais em diferentes volumes de *terc*-butanol ..... 83
Tabela 15 - Fluxos mássicos de alimentação nova e entrada e saída do reator ..... 85
Tabela 16 - Fluxos mássicos das correntes de entrada, saída e topo dos flashs 1, 2 e 3 ..... 86
Tabela 17 - Calores requeridos nos trocadores de calor ..... 86
Tabela 18 - Fluxos mássicos de entrada e saída da coluna de destilação ..... 87
Tabela 19 - Especificações e calores da coluna de destilação ..... 87
Tabela 20 - Especificações e calores da coluna de metanol ..... 88
Tabela 21 - Especificações e calores da coluna de biodiesel ..... 89
Tabela 22 - Especificações e calores da coluna de glicerina ..... 89
Tabela 23 - Comparação do gasto energético entre os processos alcalino e enzimático ..... 90
Tabela 24 - Massas molares dos ésteres metílicos ..... 100
Tabela 25 - Dados das amostras da determinação de cossolvente ..... 108
Tabela 26 - Resultados da transesterificação da amostra Branco - 1 ..... 109
Tabela 27 - Resultados da transesterificação da amostra Branco - 2 ..... 109
Tabela 28 - Resultados da transesterificação da amostra H81 - 1 ..... 109
Tabela 29 - Resultados da transesterificação da amostra H81 - 2 ..... 110
Tabela 30 - Resultados da transesterificação da amostra H41 - 1 ..... 110
Tabela 31 Resultados da transesterificação da amostra H41 - 2 ..... 110
Tabela 32 - Resultados da transesterificação da amostra H21 - 1 ..... 111

Tabela 33 - Resultados da transesterificação da amostra H21 - 2 ..... 111
Tabela 34 - Resultados da transesterificação da amostra H11 - 1 ..... 111
Tabela 35 - Resultados da transesterificação da amostra H11 - 2 ..... 112
Tabela 36 - Resultados da transesterificação da amostra H14 - 1 ..... 112
Tabela 37 - Resultados da transesterificação da amostra H14 - 2 ..... 112
Tabela 38 - Resultados da transesterificação da amostra T201 - 1 ..... 113
Tabela 39 - Resultados da transesterificação da amostra T201 - 2 ..... 113
Tabela 40 - Resultados da transesterificação da amostra T151 - 1 ..... 113
Tabela 41 - Resultados da transesterificação da amostra T151 - 2 ..... 114
Tabela 42 - Resultados da transesterificação da amostra T101 - 1 ..... 114
Tabela 43 - Resultados da transesterificação da amostra T101 - 2 ..... 114
Tabela 44 - Resultados da transesterificação da amostra T81 - 1 ..... 115
Tabela 45 - Resultados da transesterificação da amostra T81 - 2 ..... 115
Tabela 46 - Resultados da transesterificação da amostra T41 - 1 ..... 115
Tabela 47 - Resultados da transesterificação da amostra T41 - 2 ..... 116
Tabela 48 - Resultados da transesterificação da amostra T21 – 1 ..... 116
Tabela 49 - Resultados da transesterificação da amostra T21 – 2 ..... 116
Tabela 50 - Resultados da transesterificação da amostra T11 - 1 ..... 117
Tabela 51 - Resultados da transesterificação da amostra T11 - 2 ..... 117
Tabela 52 - Resultados da transesterificação da amostra T14 - 1 ..... 117
Tabela 53 - Resultados da transesterificação da amostra T14 - 2 ..... 118
Tabela 54 - Resultados das conversões obtidas no estudo do cossolvente ..... 118
Tabela 55 - Dados das amostras da determinação do teor de água ..... 120
Tabela 56 - Resultados da transesterificação da amostra 0% de água - 1 ..... 120
Tabela 57 - Resultados da transesterificação da amostra 0% de água - 2 ..... 120
Tabela 58 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de água - 1 ..... 121
Tabela 59 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de água - 2 ..... 121
Tabela 60 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de água - 1 ..... 121
Tabela 61 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de água - 2 ..... 122
Tabela 62 - Resultados da transesterificação da amostra 6% de água - 1 ..... 122
Tabela 63 - Resultados da transesterificação da amostra 6% de água - 2 ..... 122
Tabela 64 - Dados das amostras da determinação da razão molar metanol/óleo ..... 124
Tabela 65 - Resultados da transesterificação da amostra da razão molar 3:3 - 1 ..... 124
Tabela 66 - Resultados da transesterificação da amostra da razão molar 3:3 - 2 ..... 124

Tabela 67 - Dados das amostras da determinação da quantidade de catalisador ..... 126
Tabela 68 - Resultados da transesterificação da amostra 0,3% de enzima - 1 ..... 126
Tabela 69 - Resultados da transesterificação da amostra 0,3% de enzima - 2 ..... 127
Tabela 70 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de enzima - 1 ..... 127
Tabela 71 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de enzima - 2 ..... 127
Tabela 72 - Resultados da transesterificação da amostra 0,8% de enzima - 1 ..... 128
Tabela 73 - Resultados da transesterificação da amostra 0,8% de enzima - 2 ..... 128
Tabela 74 - Resultados da transesterificação da amostra 1% de enzima - 1 ..... 128
Tabela 75 - Resultados da transesterificação da amostra 1% de enzima - 2 ..... 129
Tabela 76 - Resultados da transesterificação da amostra 1,5% de enzima - 1 ..... 129
Tabela 77 - Resultados da transesterificação da amostra 1,5% de enzima - 2 ..... 129
Tabela 78 - Resultados da transesterificação da amostra 2% de enzima - 1 ..... 130
Tabela 79 - Resultados da transesterificação da amostra 2% de enzima - 2 ..... 130
Tabela 80 - Resultados da transesterificação da amostra 2,5% de enzima - 1 ..... 130
Tabela 81 - Resultados da transesterificação da amostra 2,5% de enzima - 2 ..... 131
Tabela 82 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de enzima..... 131
Tabela 83 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de enzima - 2 ..... 131
Tabela 84 - Resultados da transesterificação da amostra 3,5% de enzima - 1 ..... 132
Tabela 85 - Resultados da transesterificação da amostra 3,5% de enzima - 2 ..... 132
Tabela 86 - Resultados da transesterificação da amostra 4% de enzima - 1 ..... 132
Tabela 87 - Resultados da transesterificação da amostra 4% de enzima - 2 ..... 133
Tabela 88 - Resultados da transesterificação da amostra 4,5% de enzima - 1 ..... 133
Tabela 89 - Resultados da transesterificação da amostra 4,5% de enzima - 2 ..... 133
Tabela 90 - Resultados da transesterificação da amostra 5% de enzima - 1 ..... 134
Tabela 91 - Resultados da transesterificação da amostra 5% de enzima - 2 ..... 134
Tabela 92 - Resultados obtidos das conversões dos ensaios de quantidade de enzima..... 134
Tabela 93 - Dados das amostras da conversão ao longo do tempo ..... 136
Tabela 94 - Resultados da transesterificação da amostra de 0,5h - 1 ..... 137
Tabela 95 - Resultados da transesterificação da amostra de 0,5h - 2 ..... 137
Tabela 96 - Resultados da transesterificação da amostra de 1h - 1 ..... 137
Tabela 97 - Resultados da transesterificação da amostra de 1h - 2 ..... 138
Tabela 98 - Resultados da transesterificação da amostra de 1,5h - 1 ..... 138
Tabela 99 - Resultados da transesterificação da amostra de 1,5h - 2 ..... 138
Tabela 100 - Resultados da transesterificação da amostra de 2h - 1 ..... 139

Tabela 101 - Resultados da transesterificação da amostra de 2h - 2 ..... 139
Tabela 102 - Resultados da transesterificação da amostra de 3h - 1 ..... 139
Tabela 103 - Resultados da transesterificação da amostra de 3h - 2 ..... 140
Tabela 104 - Resultados da transesterificação da amostra de 4h - 1 ..... 140
Tabela 105 - Resultados da transesterificação da amostra de 4h - 2 ..... 140
Tabela 106 - Resultados da transesterificação da amostra de 6h - 1 ..... 141
Tabela 107 - Resultados da transesterificação da amostra de 6h - 2 ..... 141
Tabela 108 - Resultados da transesterificação da amostra de 8h - 1 ..... 141
Tabela 109 - Resultados da transesterificação da amostra de 8h - 2 ..... 142
Tabela 110 - Resultados da transesterificação da amostra de 10h - 1 ..... 142
Tabela 111 - Resultados da transesterificação da amostra de 10h - 2 ..... 142
Tabela 112 - Resultados da transesterificação da amostra de 12h - 1 ..... 143
Tabela 113 - Resultados da transesterificação da amostra de 12h - 2 ..... 143
Tabela 114 - Resultados da transesterificação da amostra de 16h - 1 ..... 143
Tabela 115 - Resultados da transesterificação da amostra de 16h - 2 ..... 144
Tabela 116 - Resultados da transesterificação da amostra de 18h - 1 ..... 144
Tabela 117 - Resultados da transesterificação da amostra de 18h - 2 ..... 144
Tabela 118 - Resultados da transesterificação da amostra de 20h - 1 ..... 145
Tabela 119 - Resultados da transesterificação da amostra de 20h - 2 ..... 145
Tabela 120 - Resultados da transesterificação da amostra de 24h - 1 ..... 145
Tabela 121 - Resultados da transesterificação da amostra de 24h - 2 ..... 146
Tabela 122 - Resultados da transesterificação da amostra de 28h - 1 ..... 146
Tabela 123 - Resultados da transesterificação da amostra de 28h - 2 ..... 146
Tabela 124 - Resultados da transesterificação da amostra de 32h - 1 ..... 147
Tabela 125 - Resultados da transesterificação da amostra de 32h - 2 ..... 147
Tabela 126 - Resultados da transesterificação da amostra de 36h - 1 ..... 147
Tabela 127 - Resultados da transesterificação da amostra de 36h - 2 ..... 148
Tabela 128 - Resultados da transesterificação da amostra de 40h - 1 ..... 148
Tabela 129 - Resultados da transesterificação da amostra de 40h - 2 ..... 148
Tabela 130 - Resultados da transesterificação da amostra de 44h - 1 ..... 149
Tabela 131 - Resultados da transesterificação da amostra de 44h - 2 ..... 149
Tabela 132 - Resultados da transesterificação da amostra de 48h - 1 ..... 149
Tabela 133 - Resultados da transesterificação da amostra de 48h - 2 ..... 150
Tabela 134 - Resultados obtidos do experimento da conversão ao longo do tempo ..... 150

Tabela 135 – Resultados do equilíbrio de fases para 1:4 v/v óleo/hexano ..... 152
Tabela 136 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:1 v/v óleo/hexano ..... 152
Tabela 137 - Resultados do equilíbrio de fases para 2:1 v/v óleo/hexano ..... 152
Tabela 138 - Resultados do equilíbrio de fases para 4:1 v/v óleo/hexano ..... 152
Tabela 139 - Resultados do equilíbrio de fases para 8:1 v/v óleo/hexano ..... 153
Tabela 140 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:4 v/v óleo/terc-butanol..... 153
Tabela 141 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:1 v/v óleo/terc-butanol..... 153
Tabela 142 - Resultados do equilíbrio de fases para 2:1 v/v óleo/terc-butanol..... 153
Tabela 143 - Resultados do equilíbrio de fases para 4:1 v/v óleo/terc-butanol..... 154
Tabela 144 - Resultados do equilíbrio de fases para 8:1 v/v óleo/terc-butanol..... 154
Tabela 145 - Resultados do equilíbrio de fases para 10:1 v/v óleo/terc-butanol..... 154
Tabela 146 - Resultados do equilíbrio de fases para 15:1 v/v óleo/terc-butanol..... 154

## LISTA DE ABREVIAÇÕES

| | |
|---|---|
| AGL | Ácidos graxos livres |
| CG | Cromatografia gasosa |
| PNPB | Programa Nacional de Produção do Biodiesel |
| TG | Triglicerídeo |
| DG | Diglicerídeo |
| MG | Monoglicerídeo |
| ES | Complexo enzima-substrato |
| $V_{MAX}$ | Velocidade máxima na condição de máxima utilização da enzima pelo substrato |
| ANP | Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustível |

**SUMÁRIO**


**1 INTRODUÇÃO** ..... 18
**2 OBJETIVO** ..... 20
2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS ..... 20
**3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA** ..... 21
3.1 BIODIESEL ..... 21
3.2 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO ..... 23
**3.2.1 Fontes de triglicerídeos** ..... 25
**3.2.2 Álcoois** ..... 27
**3.2.3 Tipos de catalisadores** ..... 28
3.3 CATÁLISE ENZIMÁTICA ..... 30
**3.3.1 Enzimas** ..... 30
***3.3.1.1 Imobilização de enzimas*** ..... 32
***3.3.1.2 Lipases*** ..... 34
*3.3.1.2.1 Lipase de Candida antarctica* ..... 36
**3.3.2 Cinética enzimática** ..... 37
***3.3.2.1 Cinética de Michaelis-Menten*** ..... 38
*3.3.2.1.1 Cinética de Michaelis-Menten com um intermediário* ..... 42
***3.3.2.2 Reações com múltiplos substratos e produtos*** ..... 42
*3.3.2.2.1 Complexo ternário* ..... 43
*3.3.2.2.2 Ping-Pong* ..... 43
**3.3.3 Mecanismo da reação de transesterificação enzimática** ..... 45
**3.3.4 Variáveis que influenciam a transesterificação enzimática** ..... 47
***3.3.4.1 Efeito da razão molar*** ..... 47
***3.3.4.2 Efeito da adição de cossolvente*** ..... 49
***3.3.4.3 Efeito da adição de água*** ..... 51
***3.3.4.4 Efeito da quantidade de enzima*** ..... 53
***3.3.4.5 Efeito da temperatura*** ..... 54
***3.3.4.6 Efeito do tempo de reação*** ..... 56
***3.3.4.7 Efeito da quantidade de ácido graxo livre*** ..... 56
***3.3.4.8 Reutilização da enzima*** ..... 56
3.4 DESCRIÇÃO DO PROCESSO CONVENCIONAL QUÍMICO ..... 57
**4 MATERIAIS E MÉTODOS** ..... 60

4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA ..... 60
**4.1.1 Materiais utilizados na caracterização da matéria prima** ..... 60
**4.1.2 Determinação do índice de acidez** ..... 60
**4.1.3 Determinação do índice de saponificação** ..... 61
**4.1.4 Determinação da massa molar média do óleo** ..... 61
4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA ..... 62
**4.2.1 Materiais utilizados na determinação da atividade enzimática** ..... 62
**4.2.2 Métodos utilizados na determinação da atividade enzimática** ..... 62
4.3 REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA ..... 63
**4.3.1 Materiais utilizados nas reações de transesterificação enzimática** ..... 63
**4.3.2 Método utilizado para a transesterificação enzimática** ..... 63
***4.3.2.1 Estudo da influência do cossolvente na reação de transesterificação enzimática*** ..... 64
***4.3.2.2 Estudo da influência do teor de água*** ..... ***64***
***4.3.2.3 Estudo da influência da razão molar*** ..... 65
***4.3.2.4 Estudo da influência da quantidade de enzima*** ..... 65
***4.3.2.5 Estudo da conversão da reação ao longo do tempo*** ..... 65
4.4 DETERMINAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS ..... 65
**4.4.1 Materiais utilizados na determinação dos ésteres metílicos** ..... 65
**4.4.2 Métodos utilizados na determinação dos ésteres metílicos** ..... 66
4.5 SIMULAÇÃO NO PROGRAMA ASPEN PLUS® ..... 67
**4.5.1 Método utilizado na simulação do equilíbrio de fases** ..... 68
**4.5.2 Métodos utilizados na proposta do processo via catálise enzimática** ..... 69
**4.5.3 Métodos utilizados na comparação dos processos de separação** ..... 70
**5 RESULTADOS E DISCUSSÃO** ..... 72
5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA ..... 72
5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA ..... 72
5.3 TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA ..... 73
**5.3.1 Estudo da influência do cossolvente** ..... 73
**5.3.2 Estudo da influência do teor de água** ..... 75
**5.3.3 Estudo da influência da razão molar metanol/óleo** ..... 76
**5.3.4 Estudo da influência da quantidade de enzima** ..... 76
**5.3.5 Estudo da conversão da reação ao longo do tempo** ..... 78
5.4 SIMULAÇÃO NO PROGRAMA ASPEN PLUS ® ..... 79
**5.4.1 Estudo do equilíbrio de fases do sistema utilizando o ASPEN Plus ®** ..... 79

**5.4.2 Proposta de processo de produção via catálise enzimática** ..... 84
**5.4.3 Descrição dos gastos energéticos do processo via catálise alcalina** ..... 88
**5.4.4 Comparação entre os processos de separação das rotas alcalina e enzimática** . 89
**6 CONCLUSÃO** ..... 92
**REFERÊNCIAS** ..... 94
**APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS PADRÕES** ..... 99
**APÊNDICE B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DOS PADRÕES** ..... 103
**APÊNDICE C – TABELAS DO COSSOLVENTE** ..... 107
**APÊNDICE D – TABELAS DA QUANTIDADE DE ÁGUA** ..... 119
**APÊNDICE E – TABELAS DA RAZÃO MOLAR** ..... 123
**APÊNDICE F – TABELAS DA QUANTIDADE DE CATALISADOR** ..... 125
**APÊNDICE G – TABELAS DA CONVERSÃO AO LONGO DO TEMPO** ... 135
**APÊNDICE H – TABELAS DO EQUILÍBRIO DE FASES** ..... 151

# 1 INTRODUÇÃO

O longínquo e contínuo uso de combustíveis fósseis tem provocado sérios problemas ambientais, como as grandes emissões de gases do efeito estufa no meio ambiente e o aquecimento global. Só em 2016, a quantidade de gases antrópicos emitidos foi de 428,95 milhões de toneladas de dióxido de carbono equivalentes, sendo que, destes, 194,3 milhões foram gerados pelo setor de transportes. Além desses efeitos prejudiciais ao meio ambiente, os combustíveis fósseis são fontes de energia não renováveis (EPE, 2016).

Os biocombustíveis são combustíveis derivados de matérias primas renováveis e biodegradáveis que são alternativas aos combustíveis fósseis. São utilizados desde os primórdios da humanidade, sendo um exemplo a madeira, utilizada para cozinhar e aquecer, bem como o óleo vegetal, usado como combustível para iluminação. Antes do século XIX, estes biocombustíveis eram a principal fonte de energia do mundo, porém, atualmente, os combustíveis fósseis representam cerca de 80% do consumo mundial de energia (GUO; SONG; BUHAIN, 2014). No Brasil, atualmente, as principais energias renováveis são o etanol da cana de açúcar, a hidráulica, o carvão vegetal, o biodiesel e a eólica. A participação destas na Matriz Energética Brasileira é de 43,5% de toda a energia, uma das mais elevadas do mundo (EPE, 2016).

No setor de transportes, o biodiesel e o etanol são alternativas destes combustíveis, sendo: o primeiro utilizado em veículos de grande porte e produzido a partir de óleos vegetais, óleos e gorduras residuais ou de gorduras animais e o outro utilizado como substituto da gasolina em veículos de pequeno porte e produzido a partir da cana de açúcar. O etanol já possui uma participação expressiva no mercado brasileiro de transportes representando 16,8% do consumo de energia do setor, competindo economicamente com a gasolina, com 29,3%. O biodiesel, hoje em dia, é usado em forma de mistura com o diesel e sua participação no mercado de transportes é de 3,3%, enquanto o de o diesel é de 43,9% (EPE, 2016).

O biodiesel tem vantagens em relação ao diesel, tais como a facilidade de decomposição em caso de acidentes ou vazamentos, o alto ponto de ignição, como também praticidade no transporte e armazenamento. O biodiesel é obtido a partir de uma reação de transesterificação de um óleo com um álcool na presença de um catalisador, que pode ser homogêneo básico ou ácido, bem como heterogêneo básico ou ácido ou enzimático. Atualmente, a catálise homogênea é a mais comum, mas a rota heterogênea tem a vantagem de produzir uma glicerina de maior pureza e separar-se com facilidade do catalisador (AVHAD; MARCHETTI, 2015).

Uma rota heterogênea é a catálise enzimática com enzima imobilizada, que além das vantagens já citadas, não possui a desvantagem da ocorrência de saponificação e nem gasto excessivo de água na lavagem dos produtos. Em vez disso, possui maior facilidade na separação e purificação dos produtos, diferentemente da catálise homogênea básica, que é a mais utilizada atualmente (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Levando-se em conta a importância do setor de biocombustíveis e a necessidade crescente de desenvolvimento de novas formas de geração de energia, este trabalho estudou a produção de biodiesel por catálise heterogênea enzimática utilizando a lipase imobilizada da levedura *Candida antarctica* (EC 3.1.1.3), comercializada como Novozyme 435®, além do equilíbrio de fases do sistema com a presença de cossolvente, bem como uma proposta do sistema de separação e purificação no programa ASPEN Plus®.

# 2 OBJETIVO

O presente trabalho tem como objetivo geral o estudo da produção de biodiesel via catálise enzimática, utilizando a enzima Novozyme 435®.

## 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Levando-se em conta o objetivo geral do projeto, são destacados como objetivos específicos:

a) Estudar a influência dos cossolventes hexano e *terc*-butanol na reação de transesterificação enzimática;
b) Estudar a influência da presença de água na reação de transesterificação enzimática;
c) Estudar a influência da razão molar metanol/óleo na transesterificação enzimática;
d) Estudar a influência da quantidade de catalisador na reação de transesterificação enzimática;
e) Estudar o equilíbrio de fases utilizando o software ASPEN Plus®;
f) Estudar o sistema de separação/purificação utilizando o software ASPEN Plus®;

# 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo estão descritas as informações obtidas na literatura sobre o biodiesel e seu processo de produção, assim como a sua produção via catálise enzimática, mostrando, assim, a influência de alguns parâmetros de reação, tais como a temperatura, a quantidade de catalisador, o tempo de reação, a adição de cossolvente e a adição de água na transesterificação enzimática.

## 3.1 BIODIESEL

Em todo mundo, motores a diesel são utilizados em contextos que exigem confiabilidade, longa vida útil do motor e economia de combustível, como, por exemplo, no transporte rodoviário de cargas (CROCKER, 2010).

O biodiesel é um biocombustível alternativo ao diesel de petróleo, derivado de óleos vegetais ou gorduras animais, sendo comercialmente definido pela *American Society for Testing and Materials* (ASTM) como "combustível composto de monoalquil ésteres de ácidos de cadeia longa derivado de óleos vegetais ou gorduras animais". Apesar do biodiesel fornecer cerca de 10% a menos de energia do que o diesel de petróleo, sua performance no motor no que se refere à potência e ao torque é a mesma. As vantagens deste biocombustível em relação ao diesel de petróleo são a biodegradabilidade, que proporciona facilidade na decomposição em caso de acidentes; o baixo teor de enxofre; o alto índice de cetano e o alto ponto de ignição com baixo risco de explosão, mostrando maior qualidade na combustão e facilidade no transporte e armazenamento. Por apresentar viscosidade maior do que a do diesel de petróleo, o biodiesel propicia uma melhor lubrificação no motor, reduzindo o desgaste do mesmo. O biodiesel, também, possui menor viscosidade devido à suas estruturas moleculares mais simples, o que proporciona maior eficiência na queima e reduz a deposição de resíduos no motor. Além disso, contribuir para a diminuição do consumo de combustíveis fósseis. (AVHAD; MARCHETTI, 2015; KNOTHE et al., 2006; LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Como desvantagens, estão o aumento das emissões de $NO_X$, por conter maior quantidade de oxigênio do que o diesel, e o alto custo de matéria prima, que contribui com cerca de 70 a 85% do custo total de produção (excedendo o custo de produção do diesel) mesmo utilizando o mais barato dos óleos vegetais refinados (AVHAD; MARCHETTI, 2015; DABDOUB; BRONZEL; RAMPIN, 2009; KNOTHE et al., 2006).

O uso de óleos vegetais como combustível alternativo para motores do ciclo diesel foi investigado antes mesmo das crises mundiais do petróleo, cujo auge deu-se na década de 70. Foi identificado, no entanto, que a sua utilização direta causa má atomização do combustível na câmara de combustão do motor, gerando problemas operacionais como a ocorrência de depósitos em suas partes internas, como consequência da alta viscosidade do óleo (KNOTHE et al., 2006). Para resolver este problema foram estudadas as seguintes soluções:

a) Microemulsificação: dispersão de equilíbrio coloidal de microestruturas de fluidos opticamente isotrópicos formada espontaneamente a partir de dois líquidos normalmente imiscíveis e um ou mais anfifílicos iônicos ou não iônicos (KNOTHE et al., 2006);
b) Pirólise: conversão de um material em outro por meio de aquecimento com ausência de oxigênio, gerando, assim, as fases liquida, sólida e gasosa (KNOTHE et al., 2006);
c) Diluição: diluição do óleo vegetal no diesel convencional derivado do petróleo (KNOTHE et al., 2006);
d) Transesterificação: reação de um óleo ou gordura com um álcool na presença de um catalisador para formar ésteres e glicerol, que é o método mais eficiente e utilizado atualmente, além de ser o único a produz biodiesel (KNOTHE et al., 2006);

No Brasil, na época do Próalcool (Programa Nacional do Álcool), um projeto estatal com o intuito de incentivar a produção de bioenergia, nos anos 1970, o desenvolvimento de um combustível alternativo ao diesel do petróleo foi muito estudado, mas o baixo valor do diesel na época fez as atividades cessarem. Por volta de 1990, houve crescimento da produção e do consumo de biodiesel na Europa e na Alemanha, impulsionado pela queda do preço dos óleos vegetais e a alta dos preços dos derivados de petróleo. Com isso, o governo brasileiro voltou a se interessar pelo biocombustível e verificou uma forma de melhorar a inclusão social e a agricultura familiar, criando, em 2004, o Programa Nacional de Produção do Biodiesel (PNPB). O objetivo do programa era a implementação de forma sustentável, tanto técnica como economicamente, da produção e uso do biodiesel (LEITE; LEAL, 2007; PRADO, 2015).

Assim, surgiu a obrigatoriedade de conter uma porcentagem, inicialmente, de 2% de biodiesel no diesel de petróleo, estabelecida legalmente desde 2008 (KOHLHEPP, 2010). Atualmente, o percentual de biodiesel no diesel é de 8%, com previsão de aumentar para 9% e 10% nos anos de 2018 e 2019, respectivamente (GOVERNO DO BRASIL, 2017).

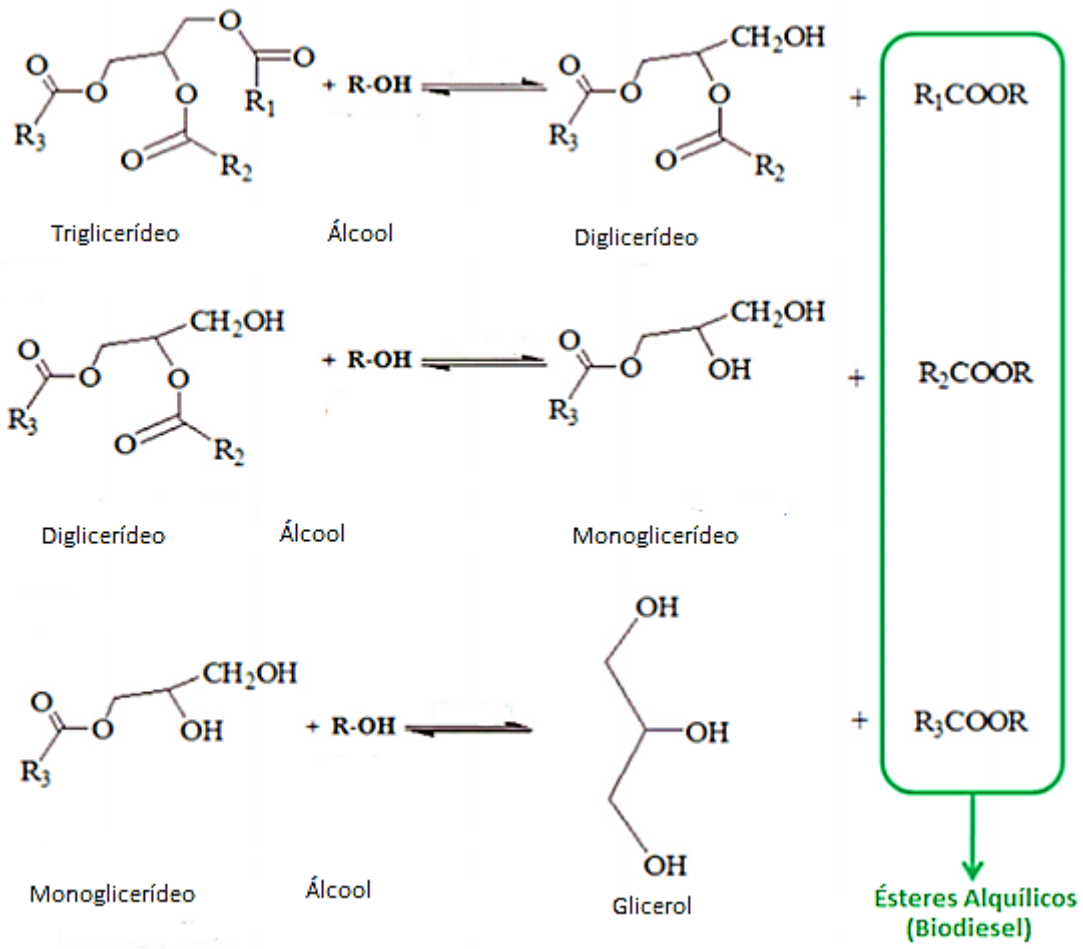
A qualidade do biodiesel pode variar de acordo com os ésteres presentes no mesmo ou

em razão de contaminantes presentes na matéria prima, como fósforo, magnésio, cálcio e enxofre. A Agencia Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) é responsável pelas especificações da qualidade do biodiesel, quanto aos parâmetros de viscosidade cinemática, ponto de fulgor, cinzas sulfatadas, glicerina livre, glicerídeos não reagidos, sabões, álcool residual, resíduos de catalisador e água (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

## 3.2 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Transesterificação é o nome dado à reação em que um triglicerídeo (éster de ácido graxo presente nos óleos vegetais e gorduras animais) reage com um álcool de cadeia curta, na presença de um catalisador que pode ser ácido básico ou enzimático, para formar éster alquílico (biodiesel) e glicerol. Esta é uma reação consecutiva e reversível, onde o triglicerídeo (TG) é convertido a um diglicerídeo (DG), depois em a monoglicerídeo (MG) e, finalmente, em glicerol. Um mol de éster é liberado a cada etapa da reação, como mostra a Figura 1 (TAN; ABDULLAH; NOLASCO-HIPOLITO, 2015).

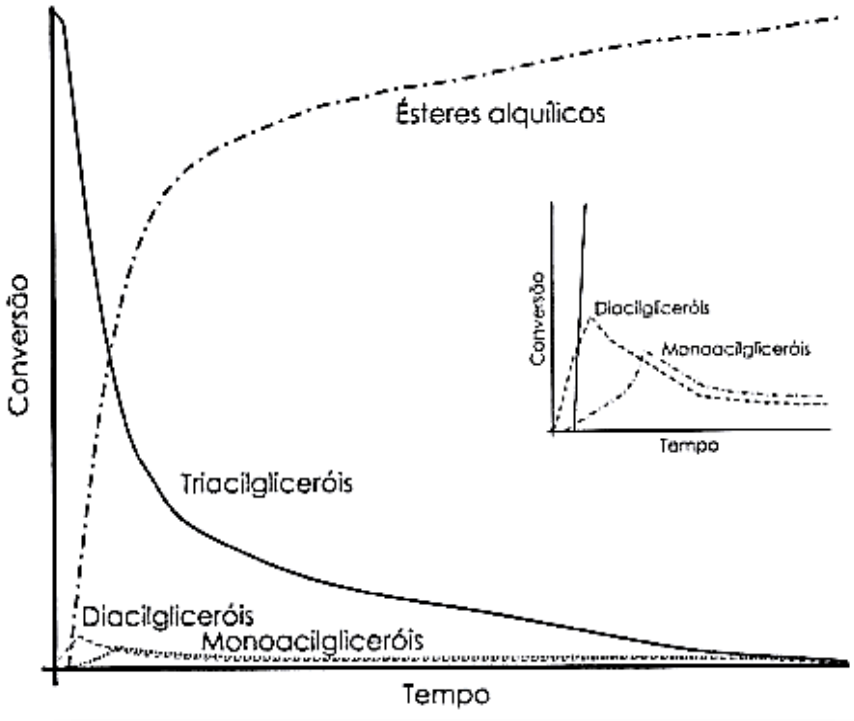
Figura 1 – Etapas da reação de transesterificação




Fonte: "Adaptado de" Avhad e Marchetti, 2015.
Legenda: $R_1$, $R_2$ e $R_3$ representam os diferentes ácidos graxos.

Como a reação ocorre em etapas, pode-se observar a formação dos intermediários di- e monoacilgliceróis. A Figura 2 mostra qualitativamente o perfil de conversão e tempo de reação do processo, levando em conta também seus intermediários di- e monoglicerídeos, que podem atingir diferentes concentrações dependendo das condições de processo (KNOTHE et al., 2006).

Figura 2- Gráfico qualitativo de conversão em uma reação de transesterificação




Fonte: Knothe et al.,2006

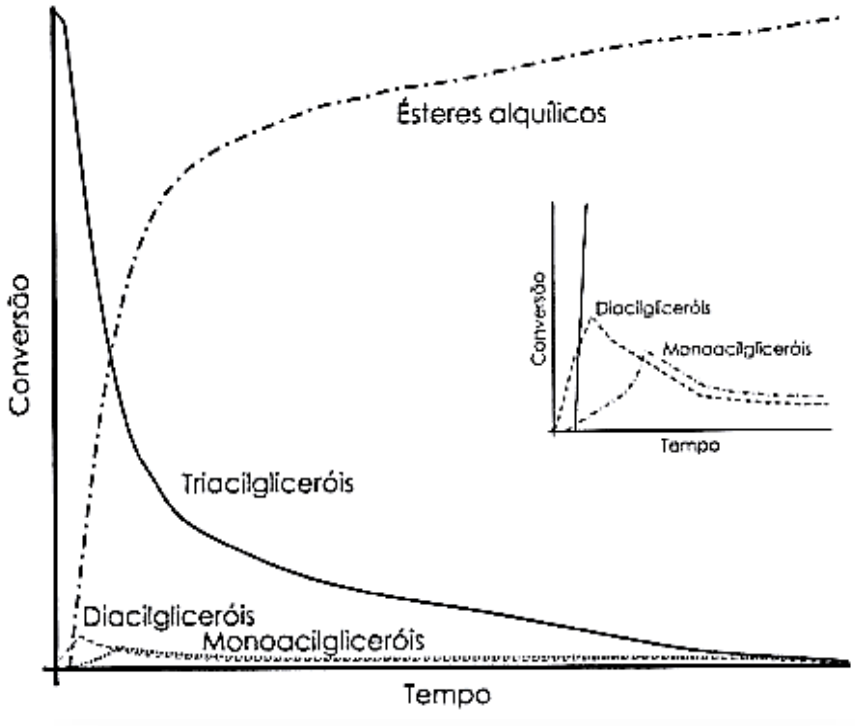
A concentração de diacilgliceróis (diglicerídeos) aumenta de acordo com o consumo dos triglicerídeos (triacilgliceróis) segundo a reação de transesterificação. A etapa consecutiva da reação é o consumo de diglicerídeos formando monoglicerídeos (monoacilgliceróis) e aumentando a concentração dos mesmos. Em seguida, ocorre o consumo dos MG para a formação de ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol.

### 3.2.1 Fontes de triglicerídeos

As fontes de triglicerídeos utilizados como matéria prima na produção de biodiesel varia de acordo com a região. Por exemplo, na Europa, o óleo de canola é o mais utilizado, enquanto na Malásia e Indonésia, o óleo de palma é o mais comum. Apesar de ser uma das oleaginosas que possui um dos mais baixos teores de óleo, a soja é a matéria prima mais utilizada nos Estados Unidos e no Brasil, isto por causa da alta demanda do farelo de soja para a produção de ração animal (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Os óleos possuem em sua composição diferentes ácidos graxos saturados e insaturados, e a Tabela 1 mostra a fórmula molecular dos principais ácidos graxos presentes nos óleos (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Figura 2- Gráfico qualitativo de conversão em uma reação de transesterificação




Fonte: Knothe et al.,2006

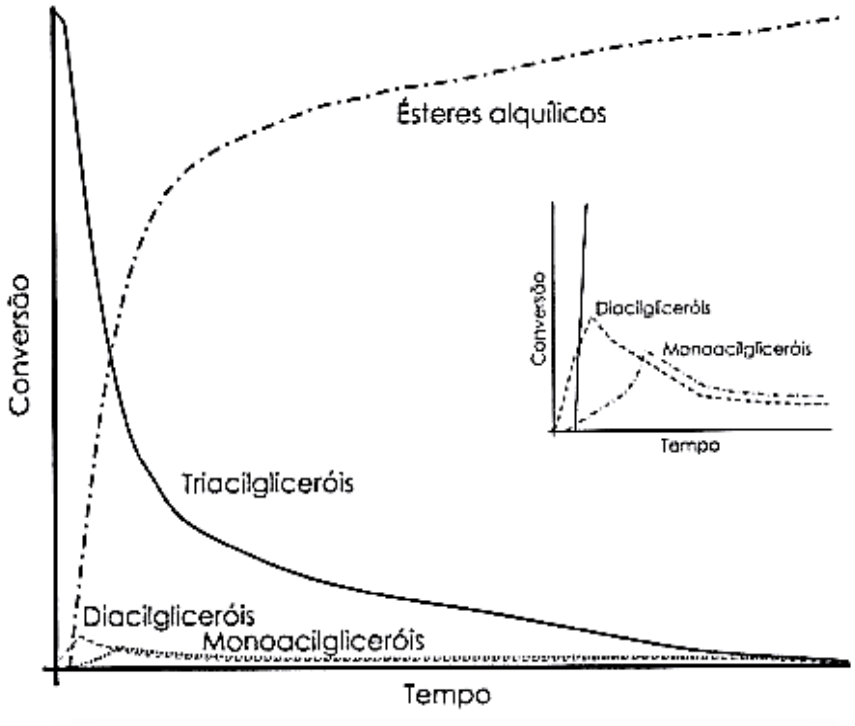
A concentração de diacilgliceróis (diglicerídeos) aumenta de acordo com o consumo dos triglicerídeos (triacilgliceróis) segundo a reação de transesterificação. A etapa consecutiva da reação é o consumo de diglicerídeos formando monoglicerídeos (monoacilgliceróis) e aumentando a concentração dos mesmos. Em seguida, ocorre o consumo dos MG para a formação de ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol.

### 3.2.1 Fontes de triglicerídeos

As fontes de triglicerídeos utilizados como matéria prima na produção de biodiesel varia de acordo com a região. Por exemplo, na Europa, o óleo de canola é o mais utilizado, enquanto na Malásia e Indonésia, o óleo de palma é o mais comum. Apesar de ser uma das oleaginosas que possui um dos mais baixos teores de óleo, a soja é a matéria prima mais utilizada nos Estados Unidos e no Brasil, isto por causa da alta demanda do farelo de soja para a produção de ração animal (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Os óleos possuem em sua composição diferentes ácidos graxos saturados e insaturados, e a Tabela 1 mostra a fórmula molecular dos principais ácidos graxos presentes nos óleos (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Figura 2- Gráfico qualitativo de conversão em uma reação de transesterificação




Fonte: Knothe et al.,2006

A concentração de diacilgliceróis (diglicerídeos) aumenta de acordo com o consumo dos triglicerídeos (triacilgliceróis) segundo a reação de transesterificação. A etapa consecutiva da reação é o consumo de diglicerídeos formando monoglicerídeos (monoacilgliceróis) e aumentando a concentração dos mesmos. Em seguida, ocorre o consumo dos MG para a formação de ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol.

### 3.2.1 Fontes de triglicerídeos

As fontes de triglicerídeos utilizados como matéria prima na produção de biodiesel varia de acordo com a região. Por exemplo, na Europa, o óleo de canola é o mais utilizado, enquanto na Malásia e Indonésia, o óleo de palma é o mais comum. Apesar de ser uma das oleaginosas que possui um dos mais baixos teores de óleo, a soja é a matéria prima mais utilizada nos Estados Unidos e no Brasil, isto por causa da alta demanda do farelo de soja para a produção de ração animal (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Os óleos possuem em sua composição diferentes ácidos graxos saturados e insaturados, e a Tabela 1 mostra a fórmula molecular dos principais ácidos graxos presentes nos óleos (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Tabela 1 - Fórmula molecular dos ácidos graxos

| **Ácido graxo** | **Fórmula molecular** |
|---|---|
| Láurico ($C_{12:0}$) | $CH_3(CH_2)_{10}COOH$ |
| Mirístico ($C_{14:0}$) | $CH_3(CH_2)_{12}COOH$ |
| Palmítico ($C_{16:0}$) | $CH_3(CH_2)_{14}COOH$ |
| Palmitoleico ($C_{16:1}$) | $CH_3(CH_2)_5CH{=}CH(CH_2)_7COOH$ |
| Esteárico ($C_{18:0}$) | $CH_3(CH_2)_{16}COOH$ |
| Oleico ($C_{18:1}$) | $CH_3(CH_2)_7CH{=}CH(CH_2)_7COOH$ |
| Linoleico ($C_{18:2}$) | $CH_3(CH_2)_4CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$ |
| Linolênico ($C_{18:3}$) | $CH_3CH_2CH{=}CHCH_2CH{=}CH(CH_2)_7COOH$ |

Fonte: "Adaptado de" Magalhães, 2010.
Legenda: Ácido graxo ($C_{X:Y}$), em que X representa o número de carbonos e Y representa o número de instaurações presentes no ácido graxo.

Cada óleo possui uma composição diferente de ácidos graxos, e a Tabelas 2 mostra a composição de diferentes óleos em relação à porcentagem mássica de ácidos graxos.

Tabela 2 - Composição de ácidos graxos dos óleos

| | **Óleo** | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| **Ácido graxo (%)** | **Palma** | **Oliva** | **Colza** | **Soja** | **Milho** |
| Láurico ($C_{12:0}$) | 0,1 | - | - | - | - |
| Mirístico ($C_{14:0}$) | 0,7 | - | - | - | - |
| Palmítico ($C_{16:0}$) | 36,7 | 11,6 | 4,9 | 11,3 | 6,5 |
| Palmitoleico ($C_{16:1}$) | 0,1 | 1 | - | 0,1 | 0,6 |
| Esteárico ($C_{18:0}$) | 6,6 | 3,1 | 1,6 | 3,6 | 1,4 |
| Oleico ($C_{18:1}$) | 46,1 | 75 | 33 | 24,9 | 65,6 |
| Linoleico ($C_{18:2}$) | 8,6 | 7,8 | 20,4 | 53 | 25,1 |
| Linolênico ($C_{18:3}$) | 0,3 | 0,6 | 7,9 | 6,1 | 0,1 |

Fonte: "Adaptado de" Price, 2014.

O biodiesel apresenta diferenças dependendo da oleaginosa usada como matéria-prima: quando produzido com óleo composto por ácidos graxos insaturados possui menor viscosidade; já o produzido com óleo composto de ácidos graxos saturados, pode solidificar e entupir as linhas de combustível em temperaturas muito baixas (PRICE, 2014).

Os triglicerídeos possuem ácidos graxos livres (AGL) em sua composição, principalmente quando o óleo não é refinado. Na catálise química básica, a presença de AGL

diminui a conversão em biodiesel, pois favorece a reação de saponificação e consome o catalisador. A saponificação é a hidrólise alcalina de um éster com uma base forte, formando um sal orgânico (sabão) e glicerol, a qual acontece simultaneamente com a transesterificação em um reator típico de produção de biodiesel, dependendo da quantidade relativa de íon de metóxido ($^{-}OCH_3$) e íon de hidróxido ($^{-}OH$) presentes no meio. Esta quantidade relativa é determinada pelo equilíbrio mostrado na Equação 1, quando utilizado hidróxido de sódio como catalisador e metanol (CROCKER, 2010).

$$CH_3OH + Na^+ + {}^{-}OH \rightleftarrows Na^+ + {}^{-}OCH_3 + H_2O \quad (1)$$

A quantidade ideal de AGL para a transesterificação química com base forte é de 0,5%, quando não é necessário nenhum tratamento prévio no óleo. Com índices entre 0,5 a 4%, o óleo pode passar por um processo de precipitação de AGL em forma de sabão antes da transesterificação. Já se possuírem quantidades maiores devem passar por um tratamento prévio com catalisador ácido, como o ácido sulfúrico, para esterificar os AGL a ésteres metílicos, e seguir para posterior transesterificação com catalisador alcalino, para, assim, não comprometer a eficiência do processo (KNOTHE et al., 2006).

A água formada na Equação 1, juntamente com a água residual contida no óleo e no álcool, favorecem a hidrólise dos ésteres alquílicos, formando AGL e produzindo mais sabão (KNOTHE et al., 2006).

A produção de sabão, além de diminuir a conversão em biodiesel, inibe a separação de fases entre o glicerol e os ésteres metílicos; contribui para a formação de emulsões durante a lavagem aquosa, dificultando a separação; consome o catalisador, necessitando de uma maior quantidade do mesmo e reduz a eficiência catalítica (KNOTHE et al., 2006).

### 3.2.2 Álcoois

Diversos álcoois alifáticos de cadeia curta podem ser utilizados na reação de transesterificação, como o metanol, etanol, propanol e *iso*-propanol. O metanol é o mais utilizado atualmente, pois tem menor custo e possui maior facilidade na separação de fases biodiesel-glicerina e na recuperação do álcool não reagido (PRICE, 2014).

Normalmente, o álcool é utilizado em excesso para deslocar o equilíbrio da reação para o lado dos produtos, e, assim, obter rendimentos maiores, uma vez que a reação de transesterificação é reversível. Na catálise alcalina básica, com hidróxido de sódio, utilizada em

larga escala hoje em dia, o excesso de metanol comumente utilizado é de 100%, ou seja, e utilizado uma razão molar de 6:1 (metanol/óleo) (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

### 3.2.3 Tipos de catalisadores

Os catalisadores utilizados para a reação de transesterificação podem ser classificados em homogêneos ou heterogêneos, categorizando, também, a catálise em homogênea ou heterogênea. Entende-se por catálise homogênea quando o catalisador está na mesma fase dos reagentes e heterogênea quando está em fase diferente. Além da classificação quanto à homo ou heterogeneidade, a catálise é classificada como ácida, básica ou enzimática. Na Tabela 3, são apresentadas resumidamente algumas vantagens e desvantagens para cada tipo de catálise.

Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das diferentes catálises

(Continua)

| Tipo da catálise | Vantagens | Desvantagens |
|---|---|---|
| Catálise homogênea básica | - Reação rápida – 4000 vezes mais rápida que a catálise ácida<br>- Condições amenas de reação e menor gasto energético<br>- Catalisadores como NaOH e KOH são relativamente baratos e disponíveis | - Sensível à ácidos graxos livres<br>- Formação de sabão, diminuindo o rendimento de biodiesel e causando problemas na separação purificação dos produtos<br>- Envenenamento do catalisador quando exposto ao ambiente<br>- Gasto excessivo de água na purificação dos produtos |
| Catálise heterogênea básica | - Relativamente mais rápida que que a catálise ácida<br>- Condições amenas de reação e menor gasto energético<br>- Facilidade na separação do catalisador e possibilidade de reuso do mesmo | - Sensível às AGL presentes no óleo<br>- Formação de sabão se a porcentagem de AGL for maior do que 2%, diminuindo o rendimento de biodiesel<br>- Catalisador pode contaminar do produto |
| Catálise homogênea ácida | - Insensível à AGL e à quantidade de água presentes no óleo<br>- Óleo de menor qualidade<br>- Esterificação e transesterificação ocorrem simultaneamente<br>- Condições amenas de reação e menor gasto energético | - Reação muito lenta<br>- Pode ocorrer corrosão do reator se for utilizado catalisador corrosivo, como o $H_2SO_4$<br>- Pode haver dificuldade na separação do catalisador e produto |

(Conclusão)

| Tipo da catálise | Vantagens | Desvantagens |
|---|---|---|
| Catálise enzimática | - Insensível à AGL e à quantidade de água presentes no óleo<br>- Não ocorrência de saponificação<br>- Não contamina o produto final<br>- Preferível quando se utiliza óleo de baixa qualidade<br>- Condições amenas de reação e menor gasto energético<br>- Fácil separação do catalisador e produto<br>- Catalisador pode ser reutilizado | - Reação muito lentas, mais lenta que a catálise ácida<br>- Alto custo<br>- Sensível ao álcool, o metanol pode desativar a enzima |

Fonte: "Adaptado de" Lam, Lee e Mohamed, 2010.

Atualmente, a catálise homogênea básica com hidróxido de sódio (NaOH) é a mais utilizada, pois este é considerado o método de menor custo para a produção. Apesar disso, apresenta diversas desvantagens como a ocorrência de saponificação, a sensibilidade à presença de ácidos graxos livres, a contaminação do biodiesel com o catalisador, que gera gasto excessivo de água para lavagem e nas etapas de neutralização, além de ter como consequência a formação de emulsão. Outra desvantagem é que a glicerina produzida como subproduto fica contaminada com catalisador, perdendo o seu potencial de uso na indústria farmacêutica e cosmética. Do mesmo modo, outras substâncias podem ser utilizadas como catalisador homogêneo básico, são alguns exemplos: hidróxido de potássio (KOH), metóxido de sódio ($CH_3ONa$) e metóxido de potássio ($CH_3OK$) (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

A catálise homogênea ácida não é sensível à presença de ácidos graxos livres e pode catalisar a esterificação e a transesterificação simultaneamente. Os catalisadores homogêneos ácidos mais pesquisados hoje em dia são o ácido sulfúrico ($H_2SO_4$) e o ácido clorídrico (HCl). Apesar das vantagens, este método não é popular na aplicação industrial, pois apresenta reação mais lenta, requer temperaturas mais altas e alta razão molar de álcool/óleo, além de causar problemas ambientais e de corrosão dos equipamentos (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Na catálise heterogênea, o catalisador se encontra no estado sólido, e a catálise pode ser limitada por outros fatores, como a dificuldade na transferência de massa. Entretanto, este sistema tem vantagens como uma maior simplicidade no sistema de separação e purificação e facilidade na reutilização do catalisador. Da mesma forma, a catálise heterogênea básica também traz o problema de saponificação e a sensibilidade a ácidos graxos livres. Os

catalisadores heterogêneos básicos são: zeólitas básicas e óxidos de metais alcalinos terrosos, principalmente o óxido de cálcio (CaO) (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

A catálise heterogênea ácida, além de ter o sistema de separação do catalisador simples, que resulta em uma baixa contaminação dos produtos, não ocorre formação de sabão, além de que a esterificação e a transesterificação acontecem simultaneamente e não há grandes problemas com a corrosão. Os principais catalisadores heterogêneos ácidos são: óxido de zircônia ($ZnO_2$), óxido de titânio ($TiO_2$), óxido de estanho ($SnO_2$) e zeólitas (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Outra forma de catálise é a enzimática, na qual são utilizadas lipases, um determinado tipo de enzimas pertencente à classe de hidrolases, que podem ser utilizadas na sua forma livre ou imobilizada, sendo que, quando a enzima é imobilizada, a catálise é sempre heterogênea (LAM; LEE; MOHAMED, 2010). Este tipo de catálise apresenta vantagens em relação à catálise química e será melhor explicado no item 3.3.

## 3.3 CATÁLISE ENZIMÁTICA

A catálise enzimática tem ganhado bastante atenção dos pesquisadores nos últimos anos, por apresentar vantagens como a não ocorrência de saponificação, que além de aumentar a conversão em biodiesel facilita a separação e a purificação dos produtos, uma vez que estes não são contaminados pela enzima quando utilizada na forma imobilizada. Com isto, a glicerina pode ser vendida com maior pureza e não existe a necessidade de gastos excessivos de água na etapa de purificação (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Além disso, a enzima requer temperaturas mais baixas para catalisar a reação, acarretando em menor gasto de energia. E também não necessita de matérias primas com baixa quantidade de ácidos graxos livres (AGL), ou seja, tem maior abrangência de matérias primas (LAM; LEE; MOHAMED, 2010). As principais características do processo enzimático serão discutidas nas próximas seções.

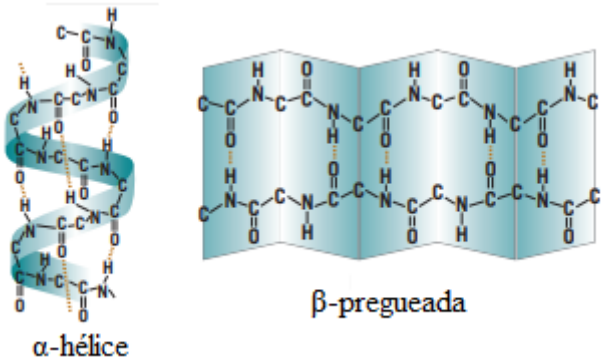
### 3.3.1 Enzimas

Enzimas são proteínas com alta massa molecular constituídas por uma ou mais cadeias polipeptídicas capazes de catalisar reações químicas. Cada polipeptídio é formado por uma cadeia de aminoácidos ligados entre si por ligações peptídicas (WALSH, 2014). A estrutura das proteínas pode ser dividida em primária, secundária, terciária e quaternária.

A estrutura primária é a sequência de aminoácidos da cadeia de polipeptídio, junto com posicionamento exato das pontes de enxofre (WALSH, 2014);

A conformação da cadeia polipeptídica, excluindo as cadeias laterais dos aminoácidos constituintes, entende-se por estrutura secundária. As principais estruturas secundárias são α-hélice e folha-β-pregueada (Figura 3), que maximizam a formação de ligações de hidrogênio intramoleculares e minimizam a repulsão entre grupos de cadeia lateral adjacente. Em uma α-hélice a carbonila de um aminoácido se liga ao hidrogênio do grupo amino (N-H) de outro aminoácido que está a quatro posições depois na cadeia, levando a uma estrutura helicoidal, com um passo de 3,6 aminoácidos em cada hélice. Já a estrutura β-pregueada tem, geralmente, de cinco a dez ligações de hidrogênio formadas pela ligação de um grupo carbonila de um aminoácido com o hidrogênio do grupo amino de outro aminoácido, resultando em um "zigue-zague" estendido. As fitas de uma folha-β-pregueada podem ser paralelas, quando todos os grupos β estão posicionados na mesma direção (do terminal amino para o terminal carbonila); antiparalelas, quando ligantes sucessivos têm direções alternadas (do N-terminal para o C-terminal seguido do C-terminal para o N-terminal) e podem ser misturadas, quando possuem os dois tipos (WALSH, 2014).

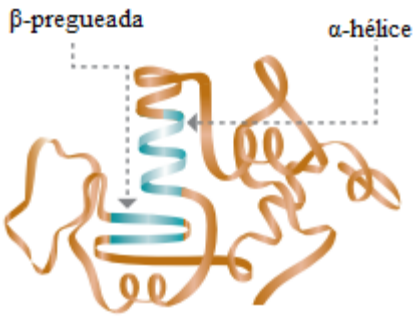
Figura 3 - Estruturas secundárias das enzimas




Fonte: "Adaptado de" Particle Science, 2009.

A estrutura terciária refere-se ao arranjo tridimensional (conformação) formado pela cadeia polipeptídica da proteína, que, geralmente, contém várias extensões de estrutura secundária interrompidas por regiões menos ordenadas, chamada amorfas, como demonstrado na Figura 4. Normalmente, enzimas possuem estrutura terciária globular, lembrando uma esfera ou glóbulo (WALSH, 2014).

Figura 4 - Estrutura terciária das enzimas




Fonte: "Adaptado de" Particle Science, 2009.

E a estrutura quaternária é a disposição espacial das cadeias polipeptídicas que compõem a proteína chamadas de subunidades. Quando a proteína possui estrutura quaternária é composta por duas ou mais subunidades de Meros (WALSH, 2014).

Assim, as proteínas podem ser classificadas de acordo com a similaridade na cadeia polipeptídica, o que implica em semelhanças estruturais e/ou funcionais (WALSH, 2014).

Desta forma, o interesse industrial por tecnologias que utilizam as proteínas catalíticas, enzimas, vem crescendo gradativamente, visto que, por serem catalisadores biológicos, possuem elevada especificidade e alta efetividade, resultando em taxas de reação mais altas comparadas à catálise química, em condições ambientes (SHULER; KARGI, 2012).

Na catálise enzimática, a energia de ativação da reação diminui quando o substrato se liga ao centro ativo da enzima, formando um complexo enzima-substrato. O centro ativo das enzimas é formado por aminoácidos de diferentes posições na sequência primária, mas que se aproximam com os dobramentos que formam a estrutura terciária. Os aspectos moleculares da interação enzima-substrato variam de um complexo para outro. Normalmente, a interação entre a enzima e o substrato é feita por interação fraca, na maioria das vezes, por força de Van der Waals ou interação de hidrogênio, além de ser responsável pelas transferências de prótons e elétrons entre uma espécie química e outra (SHULER; KARGI, 2012).

#### *3.3.1.1 Imobilização de enzimas*

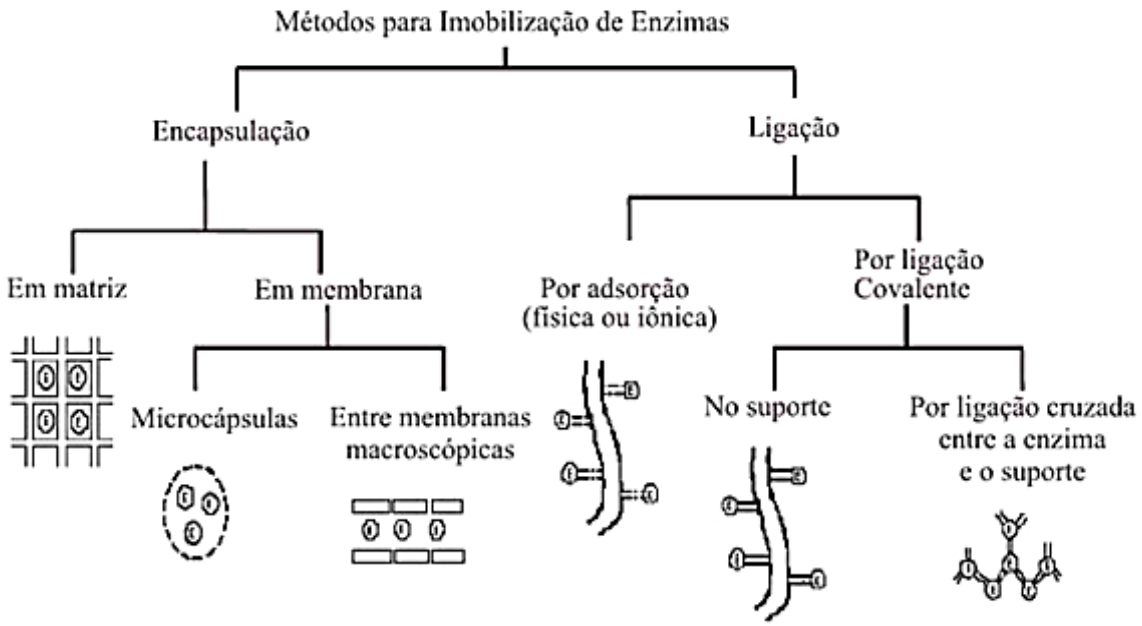
Enzimas em sua forma livre (nativa) têm sido utilizadas por séculos pelas indústrias de alimentos e mais recentemente pelas indústrias farmacêutica e química. Porém, o interesse por enzimas imobilizadas tem crescido muito nos últimos anos, pois esta forma facilita sua utilização no processo, ao possibilitar sua recuperação e reuso, diminuindo o custo do processo,

além de aumentar sua resistência às condições operacionais e não contaminar o produto com atividade enzimática residual (CASTRO et al., 2008; DABDOUB; BRONZEL; RAMPIN, 2009).

A imobilização consiste em fixar enzimas física ou quimicamente em suportes sólidos. Pode ser realizada por confinamento no interior de poros ou por meio de ligação à superfície de um material, a ser utilizado como suporte, sem perda de atividade enzimática, permitindo, assim, a reutilização da mesma. O termo "enzima imobilizada" inclui a modificação das enzimas a uma forma insolúvel, porém a utilização de enzimas solúveis em reatores com membrana de ultrafiltração, confinando-as no interior da membrana, mas permitindo o escoamento dos produtos, também caracteriza um método de imobilização (CASTRO et al., 2008).

Existem diversos tipos de imobilização, como a encapsulação e a retenção por meio de géis ou microcápsulas, a adsorção em materiais insolúveis, como resinas trocadoras de íons, a copolimerização com algum monômero, a ligação a uma matriz polimérica insolúvel e a ligação covalente (Figura 5). Geralmente, as técnicas mais utilizadas envolvem uma combinação de métodos (CASTRO et al., 2008).

Figura 5 – Métodos de imobilização de enzimas




Fonte: Dalla-Vecchia, Nascimento e Soldi, 2004.

O processo de imobilização mais utilizado é via ligação por adsorção. Neste processo, a enzima é imobilizada em um suporte sólido por meio de ligações fracas, como ligações de

Van der Walls, de hidrogênio ou iônica. A imobilização por ligação cruzada ou por ligação covalente em suporte utiliza agentes bifuncionais para a ligação covalente da enzima com um material insolúvel em água. Já a imobilização por encapsulação é um confinamento físico da enzima em polímero insolúvel ou em uma microcápsula utilizando membrana porosa (DALLA-VECCHIA; NASCIMENTO; SOLDI, 2004).

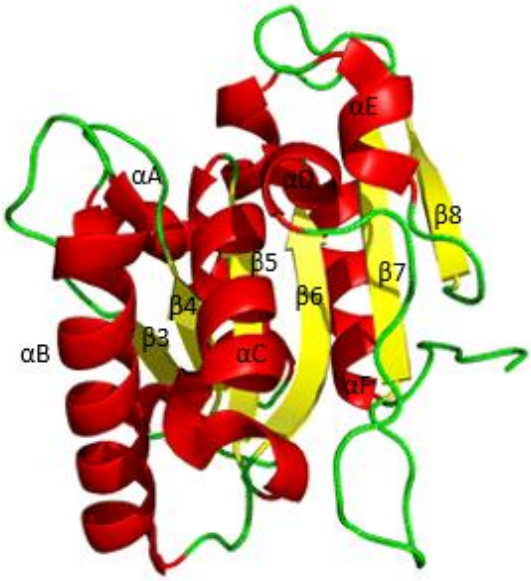
A imobilização permite que a enzima tenha atividade catalítica por um período de tempo maior, pois evita a desnaturação (perda da estrutura terciária) da mesma; permite que a enzima seja reutilizada no processo com fácil separação ou que seja retida no interior de um biorreator que opere de forma contínua; faz com que o volume da reação seja reduzido, pois possibilita uma alta concentração enzimática em menor volume de reator; e em alguns casos, altera as propriedades catalíticas, como maior estabilidade ao pH, à temperatura e ao solvente, além da redução da inibição pelo substrato e/ou produto (CASTRO et al., 2008).

#### *3.3.1.2 Lipases*

As enzimas utilizadas para catalisar a reação de transesterificação para a produção de biodiesel são as lipases (triacilglicerol hidrolases, E.C. 3.1.1.3), responsáveis pela hidrólise de acilgliceróis de cadeia longa, “in vivo”, ou seja, nos sistemas biológicos. Entretanto, as lipases são capazes de catalisar diferentes reações, como por exemplo a síntese de éster a partir de um álcool e ácido carboxílico, acidólise, acoólise e transesterificação dependendo dos reagentes utilizados (CASTRO et al., 2004).

O sítio catalítico ou centro ativo das lipases é formado pelos aminoácidos serina, ácido aspártico ou glutâmico e histidina. A serina, resíduo nucleofílico, é encontrada no C-terminal da fita β5 de um pentapeptídeo GXSXG (G=glicina, S=serina, X1=histidina e X2=ácido aspártico ou glutâmico) conservado, designada como cavidade nucleofílica. O sítio ativo é composto de 8 fitas β diferentes (β1-β8), que compõem uma folha central β, conectadas com seis α-hélices (A-F), como mostra a Figura 6. O sítio ativo das lipases é coberto por uma tampa, superfície entrelaçada, que se move quando há ligação do substrato na superfície da enzima, deixando o centro ativo exposto ao substrato (CASTRO et al., 2004).

Figura 6 - Estrutura do centro ativo da lipase (lipase A de *Bacillus subtilis*)




Fonte: "Adaptado de" Kandhari e Sihna, 2017.

Muitas lipases possuem aumento da atividade enzimática na presença de interface orgânico-aquosa. Quando a lipase é exposta a uma interface lipídica-aquosa, sua tampa sofre um rearranjo conformacional para a conformação aberta (ativa), permitindo o acesso do substrato. Entretanto, apesar de possuírem tampa, algumas lipases de origem microbiana (*Candida antarctica B, Pseudomonas aeruginosa* e *Burkholderia glumae*) não registram este aumento de atividade interfacial (CASTRO et al., 2004; PRICE, 2014).

Na indústria, as lipases são usadas nas indústrias farmacêutica, de química fina, de detergentes e de oleoquímica. Estas enzimas, também, podem ser utilizadas como biocatalisadores na produção de biodiesel (FREIRE; CASTILHO, 2008).

As lipases são encontradas em microrganismos, animais e vegetais. Suas características dependem da fonte que foram retiradas: a massa molecular pode variar entre 20 a 75kDa, atividade em pH ótimo flutua na faixa entre 4 e 9 e, em temperaturas ótimas, entre temperatura ambiente e 70°C. Industrialmente, as lipases encontradas em microrganismos, como fungos e bactérias, são as mais utilizadas, devido a sua alta velocidade de produção, alto rendimento de conversão, grande versatilidade e maior simplicidade (CASTRO et al., 2004; FREIRE; CASTILHO, 2008).

Existem três grupos de lipases, divididos de acordo com a sua especifidade. As lipases não específicas produzem ácidos graxos livres, glicerol e intermediários monoacilgliceróis e diacilgliceróis similares aos produzidos na catálise química. Estas lipases quebram as moléculas

de acilgliceróis em posição randômica. Exemplos de lipases não específicas são as produzidas por *Candida rugosa, Staphylococcus aureus, Chromobacterium viscosum e Pseudomonas sp* (CASTRO et al., 2004).

As lipases produzidas de *Aspergillus niger, Mucor javanicus, Hamicola lanuginosa, Rhizopus delemar, Rhizopus oryzae, Candida lipolytica, Rhizopus niveus* e *Penicillium roquefortii* são lipases 1,3 específicas. Elas liberam ácidos graxos das posições 1 e 3, formando produtos diferentes daqueles produzidos pelas catálises com lipase não específica e química.

Lipases com especificidade no ácido graxo são lipases com ação específica na hidrólise de ésteres, cujos ácidos graxos são de cadeia longa com dupla ligação em cis no carbono 9, como por exemplo a lipase de *Geotrichum candidum*. No entanto, este tipo de especificidade não é comum entre as lipases (CASTRO et al., 2004).

Dentre as lipases citadas será utilizada no presente trabalho a lipase B de *Candida antártica.*

*3.3.1.2.1 Lipase de Candida antarctica*

A *Candida antartica* é uma levedura que pode produzir dois tipos de lipases, chamadas de lipase A e lipase B de *Candida antartica.* Originalmente, estes microrganismos foram isolados na Antártida com o objetivo de encontrar enzimas com propriedades extremas (ANDERSON; LARSSON; KIRK, 1997).

O tipo A da lipase é dependente de cálcio e altamente termoestável, possui massa molecular de 45kDa e pH ótimo de aproximadamente 7 (ANDERSON; LARSSON; KIRK, 1997).

A lipase B da *Candida antartica* possui massa molecular de 33kDa, é independente de cálcio, menos termoestável, possui menor ativação em grandes triglicerídeos, mas é muito ativa para uma ampla gama de ésteres, amidas e tióis. Sua cadeia peptídica é composta por 317 aminoácidos, os quais se dobram na forma α/β, semelhantemente a outras hidrolases, e seu centro ativo é composto pela tríade serina, histidina e ácido aspártico (ANDERSON; LARSSON; KIRK, 1997).

No sítio ativo da lipase B da *Candida antartica*, a serina está localizada em uma cavidade estreita e profunda. As paredes internas da cavidade são compostas por aminoácidos hidrofóbicos, mas, próximo à serina, existem três aminoácidos hidrofílicos. Comparada a outras lipases, a cavidade da lipase B possui espaço muito limitado, o que resulta em maior seletividade. Estudos cristalográficos indicam que a lipase B possui duas cavidades no seu sítio

ativo, uma maior para o grupo acil e outra menor para o álcool, mostrando maior seletividade em relação ao álcool (ANDERSON; LARSSON; KIRK, 1997).

O pH ótimo desta enzima é 7, mas apresenta estabilidade na faixa de pH 3,5-9,5 em sistemas aquosos. A temperatura de desnaturação varia entre 50 e 60°C dependendo do pH utilizado. Mas quando imobilizada, a lipase B é altamente termoestável e pode ser utilizada em operações contínuas à 60-80°C sem perda significativa da atividade por várias horas (ANDERSON; LARSSON; KIRK, 1997).

A enzima utilizada no presente trabalho é a lipase B imobilizada em resina acrílica da *Candida antartica* B, comercializada como Novozyme 435®.

### 3.3.2 Cinética enzimática

A cinética enzimática é o estudo da velocidade de reações químicas que são catalisadas por enzimas. Por meio dela, a velocidade de reação é medida e os efeitos da variação nas condições reacionais são investigados nas constantes cinéticas pela conversão do substrato ou formação do produto ao longo do tempo de reação. Este estudo, proporciona, ainda, outras informações como o funcionamento do mecanismo de catálise, o modo em que a atividade é controlada e a inibição da enzima por outras substâncias.

Inicialmente, o físico-químico Victor Henri, em 1903, propôs uma teoria quantitativa da cinética enzimática (HENRI, 1903). Em 1909, os cientistas Leonor Michaelis e Maud Menten repetiram os experimentos realizados por Henri e confirmaram sua Equação, conhecida como cinética Michaelis-Menten (ou Henri-Michaelis-Menten) (MICHAELIS; MENTEN; JOHNSON; GOODY, 2010). Posteriormente, o trabalho destes estudiosos foi desenvolvido e modificado por Briggs e Haldane, que derivaram equações cinéticas utilizadas atualmente em modelagem de atividade enzimática.

A principal contribuição de Michaelis-Menten foi de a abordar a reação em dois estágios. No primeiro, o substrato se liga reversivelmente à enzima, formando o complexo enzima-substrato. No segundo passo, o complexo se desfaz, fazendo com que a enzima libere o produto e se regenere.

A cinética de muitas reações enzimáticas pode ser adequadamente descrita pelo modelo simples de Michaelis-Menten, caracterizado como um modelo UNI-UNI (um substrato e um produto) não segregado e não estruturado. Entretanto movimentos e rearranjos internos da enzima não são contabilizados e podem contribuir significativamente para a cinética global da

reação e, quando isto ocorre, a modelagem matemática é feita por extensões do modelo de Michaelis-Menten (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010).

### *3.3.2.1 Cinética de Michaelis-Menten*

O modelo de cinético de Michaelis-Menten para um único substrato formando apenas um produto está mostrado na Equação (2).

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \overset{k_2}{\rightarrow} E + P \tag{2}$$

A Equação de Michaelis-Menten é a base para a cinética de muitas reações enzimáticas de apenas um substrato. Sobre ela existem dois pressupostos fundamentais, a primeira hipótese é chamada de estado quase estacionário (ou estado pseudo-estável), em que a concentração do substrato ligado à enzima (ES) varia mais devagar que a concentração de produto e substrato, e, assim, a variação da concentração do complexo no tempo pode ser considerada desprezível (Equação 3).

$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \tag{3}$$

No estado estacionário, a velocidade de formação do complexo (ES) é igual à velocidade de desaparecimento (Equação 4):

$$v_{formação\ (ES)} = v_{desaparecimento\ (ES)} \tag{4}$$

Ou ainda:

$$v_{formação\ (ES)} = k_1 . [E] . [S] \tag{5}$$

$$v_{desaparecimento\ (ES)} = (k_{-1} + k_2) . [ES] \tag{6}$$

E, desta maneira, tem-se que:

$$k_1.[E].[S] = (k_{-1} + k_2).[ES] \quad (7)$$

Isolando [E], resulta em (Equação 8):

$$[E] = \frac{(k_{-1}+k_2).[ES]}{k_1.[S]} \quad (8)$$

A segunda hipótese considerada por Michaelis-Menten é que a concentração total da enzima não muda ao longo do tempo (Equação 9) (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010):

$$E_{TOT} = E + ES \quad (9)$$

Sabendo que a concentração da enzima [E] é dada pela Equação 9, a Equação 10 pode ser reescrita na forma:

$$[E_{TOT}] = \frac{(k_{-1}+k_2).[ES]}{k_1.[S]} + [ES] \quad (10)$$

Seja:

$$K_M = \frac{(k_{-1}+k_2)}{k_1} \quad (11)$$

Tem-se:

$$[E_{TOT}] = \frac{K_M.[ES]}{[S]} + [ES] \quad (12)$$

Sabendo-se ainda que a velocidade da reação pode ser escrita como (Equação 13):

$$v = k_2.[ES] = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt} \quad (13)$$

Pois:

$$k_2 > k_{-1} > k_1 \quad (14)$$

Assim, rearranjando a Equação 12, obtém-se:

$$[E_{TOT}].[S] = K_M.[ES] + [S].[ES] = [ES].(K_M + [S]) \quad (15)$$

Multiplicando por $k_2$:

$$k_2[E_{TOT}].[S] = k_2[ES].(K_M + [S]) \quad (16)$$

Como:

$$v = k_2.[ES] \quad (17)$$

Obtendo, portanto:

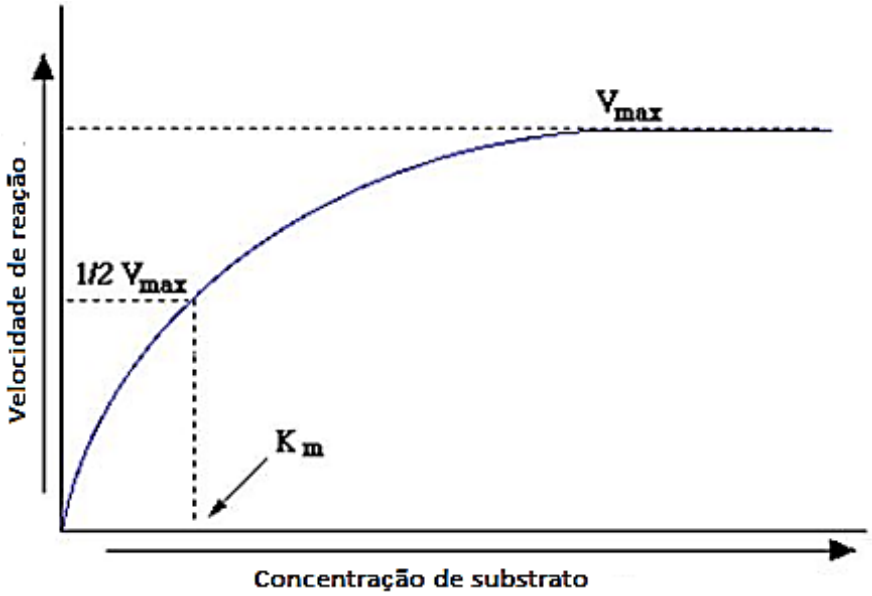
$$v = \frac{k_2[E_{TOT}].[S]}{(K_M+[S])} \quad (18)$$

A taxa de reação enzimática eleva com o aumento da concentração de substrato até um certo nível chamado de $V_{MAX}$. Em $V_{MAX}$, o aumento de concentração de substrato não aumenta a taxa reacional, pois toda a enzima encontra-se na forma de complexo enzima substrato [ES], sendo que não há enzima disponível para reação com este substrato adicional (Figura 7). Neste momento, a taxa de reação se torna dependente do complexo ES, e a reação se torna unimolecular de ordem zero (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010):

$$[E_{TOT}] = [ES] \quad (19)$$

$$V_{MÁX} = k_2[E_{TOT}] \quad (20)$$

Figura 7 - Gráfico da velocidade inicial da reação em função da concentração de substrato




Fonte: "Adaptado de" Walsh, 2014.

Assim, a Equação de Michaelis-Menten descreve como a taxa de reação do produto (P) se relaciona com a concentração de substrato (S) (Equação 21), tal qual $V_{MAX}$ representa a máxima taxa obtida pelo sistema na condição de máxima utilização da enzima pelo substrato (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010).

$$v = \frac{d[P]}{dt} = \frac{V_{MAX}.[S]}{K_M+[S]} \tag{21}$$

Apesar do mecanismo enzimático para a liberação de produto, segunda etapa da reação (ES→ E+P), ser muito complexo, existe tipicamente uma etapa enzimática determinante na cinética, a qual permite a modelagem da reação como uma única etapa catalítica com uma constante unimolecular aparente $k_{CAT}$. Se a reação segue uma via com vários intermediários, $k_{CAT}$ será função de várias constantes elementais (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010).

A constante de Michaelis $K_M$ é a concentração de substrato na qual a taxa de reação é metade de $V_{MAX}$ (Figura 7). Se a etapa enzimática é mais devagar que a dissociação do substrato ($k_2 <<<< k_{-1}$), a constante $K_M$ é aproximadamente igual à constante de dissociação do complexo ES (CHEN; NIEPEL; SORGER, 2010).

### *3.3.2.1.1 Cinética de Michaelis-Menten com um intermediário*

Pode ser considerado o mecanismo de reação menos simplificado (Equação 22):

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} ES \overset{k_2}{\rightarrow} EI \overset{k_3}{\rightarrow} E + P \tag{22}$$

Desta maneira, ocorre um intermediário, além do complexo enzima-substrato, e este é convertido em produto em uma segunda etapa. Neste caso, a Equação é bastante similar (Equação 23) (PALMER; BONNER, 2007):

$$v = \frac{d[P]}{dt} = k_{CAT} \frac{[S].E_0}{K_M^{`} + [S]} \tag{23}$$

Na Equação 23, $K_M^{`}$ é dado pela Equação 24 e $k_{cat}$ é dado pela Equação 25:

$$K_M^{`} = \frac{k_3}{k_2 + k_3} \frac{k_2 + k_{-1}}{k_1} = \frac{k_3}{k_2 + k_3} . K_M \tag{24}$$

$$k_{cat} = \frac{k_3 . k_2}{k_2 + k_3} \tag{25}$$

Quando a formação do produto pela quebra do intermediário (EI) é muito mais rápida que a etapa anterior, a Equação se torna a descrita no item 3.3.2.1 (Equação 11) (PALMER; BONNER, 2007).

### *3.3.2.2 Reações com múltiplos substratos e produtos*

Reações com múltiplos substratos possuem equações de taxa de reação mais complexas, que descrevem como e em que sequência os substratos se ligam. Se a concentração do substrato A for mantida constante, variando apenas a concentração de B, as equações tornam-se mais simples, uma vez que a enzima se comporta como se só houvesse um substrato, sendo possível calcular $K_M$ e $V_{MAX}$ aparente para o substrato B. Se um conjunto de medições for realizado com diferentes concentrações fixas de A, o mecanismo da reação pode ser descoberto.

Para uma enzima que catalisa uma reação com dois substratos obtendo dois produtos existem dois tipos de mecanismo: complexo ternário e Ping-Pong (PALMER; BONNER, 2007).

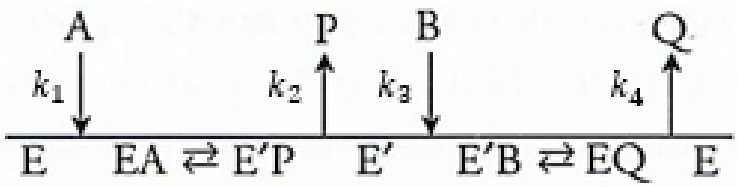
*3.3.2.2.1 Complexo ternário*

O complexo ternário se caracteriza pela ligação dos dois substratos à enzima ao mesmo tempo, formando um complexo ternário EAB. A ordem de ligação pode ser aleatória (mecanismo aleatório) ou em sequência particular (mecanismo ordenado), dependendo a enzima (PALMER; BONNER, 2007).

*3.3.2.2.2 Ping-Pong*

No mecanismo de Ping-Pong um produto é liberado antes que o segundo substrato seja adicionado. A Figura 8 mostra o mecanismo Ping-Pong para dois substratos e dois produtos (Bi Bi) (PRICE, 2014).

Figura 8 - Mecanismo de Ping-Pong Bi Bi




Fonte: Price, 2014.

Neste mecanismo, o primeiro substrato (A) se liga na lipase (E), formando um complexo enzima-substrato (EA), como também reagindo e liberando o primeiro produto (P). O primeiro substrato modifica quimicamente a enzima, como, por exemplo, ao transferir um grupo funcional para o seu sítio ativo. A enzima quimicamente modificada (E`) se liga ao segundo substrato (B), formando o complexo (E`B), liberando o segundo produto (Q) e regenerando a enzima, que volta para a sua forma inicial (PRICE, 2014).

A transesterificação enzimática obedece ao modelo cinético de Ping-Pong Bi Bi. Segundo Al-zuhair, Ling e Jun (2007), as reações de transesterificação enzimática seguem as

equações 26-31, tal qual, $k_1$ e $k_{-1}$; $k_2$ e $k_{-2}$; $k_3$ e $k_{-3}$ são as constantes de reação para a formação reversível dos complexos enzima-substrato (E.S), enzima acetilada-glicerol (E.Ac.G) e enzima acetilada-álcool (E.Ac.A), respectivamente. E $k_4$ e $k_{-4}$ são as constantes de reação de formação do éster alquílico (Bd) e de regeneração da enzima.

$$E + S \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftarrows}} E.S \tag{26}$$

$$E.S \rightleftarrows E.Ac.G \tag{27}$$

$$E.Ac.G \underset{k_{-2}}{\overset{k_2}{\rightleftarrows}} E.Ac + G \tag{28}$$

$$E.Ac + A \underset{k_{-3}}{\overset{k_3}{\rightleftarrows}} E.Ac.A \tag{29}$$

$$E.Ac.A \rightleftarrows E.Bd \tag{30}$$

$$E.Bd \underset{k_{-4}}{\overset{k_4}{\rightleftarrows}} E + Bd \tag{31}$$

A inibição competitiva foi assumida para explicar a inibição da enzima pelo álcool, que reage diretamente com a enzima produzindo um complexo enzima-álcool (E.A) sem geração de produto, ou seja inoperante. O substrato também inibe a enzima quando reage com a enzima acetilada e produz outro complexo enzima acetilada-substrato (E.Ac.S) sem geração de produto, também assumida como inibição competitiva. As duas reações de inibição estão demostradas nas equações 32 e 33, tal qual $k_5$ e $k_{-5}$; $k_6$ e $k_{-6}$ são as constantes de reação para a formação dos complexos inoperantes enzima-álcool e enzima acetilada-substrato, respectivamente (AL-ZUHAIR; LING; JUNG, 2007).

$$E + A \underset{k_{-5}}{\overset{k_5}{\rightleftarrows}} E.A \tag{32}$$

$$E.Ac + S \underset{k_{-6}}{\overset{k_6}{\rightleftarrows}} E.Ac.S \tag{33}$$

Levando em conta as reações e considerações, a Equação da velocidade de reação é dada pela Equação 34, tal qual $v$ é a velocidade inicial de reação, $V_{MAX}$ é a taxa de reação máxima, $K_S$ e $K_A$ são as constantes de dissociação do substrato e do álcool, respectivamente, $K_{IS}$ representa a constante de inibição para o substrato e $K_{IA}$ representa a constantes de inibição para o álcool (AL-ZUHAIR; LING; JUNG, 2007).

$$v = \frac{V_{MAX}}{1+\left(\frac{K_{IA}}{[A]}\right)\left[1+\frac{[S]}{K_S}\right]+\left(\frac{K_{IS}}{[S]}\right)\left[1+\left(\frac{[A]}{K_A}\right)\right]} \tag{34}$$

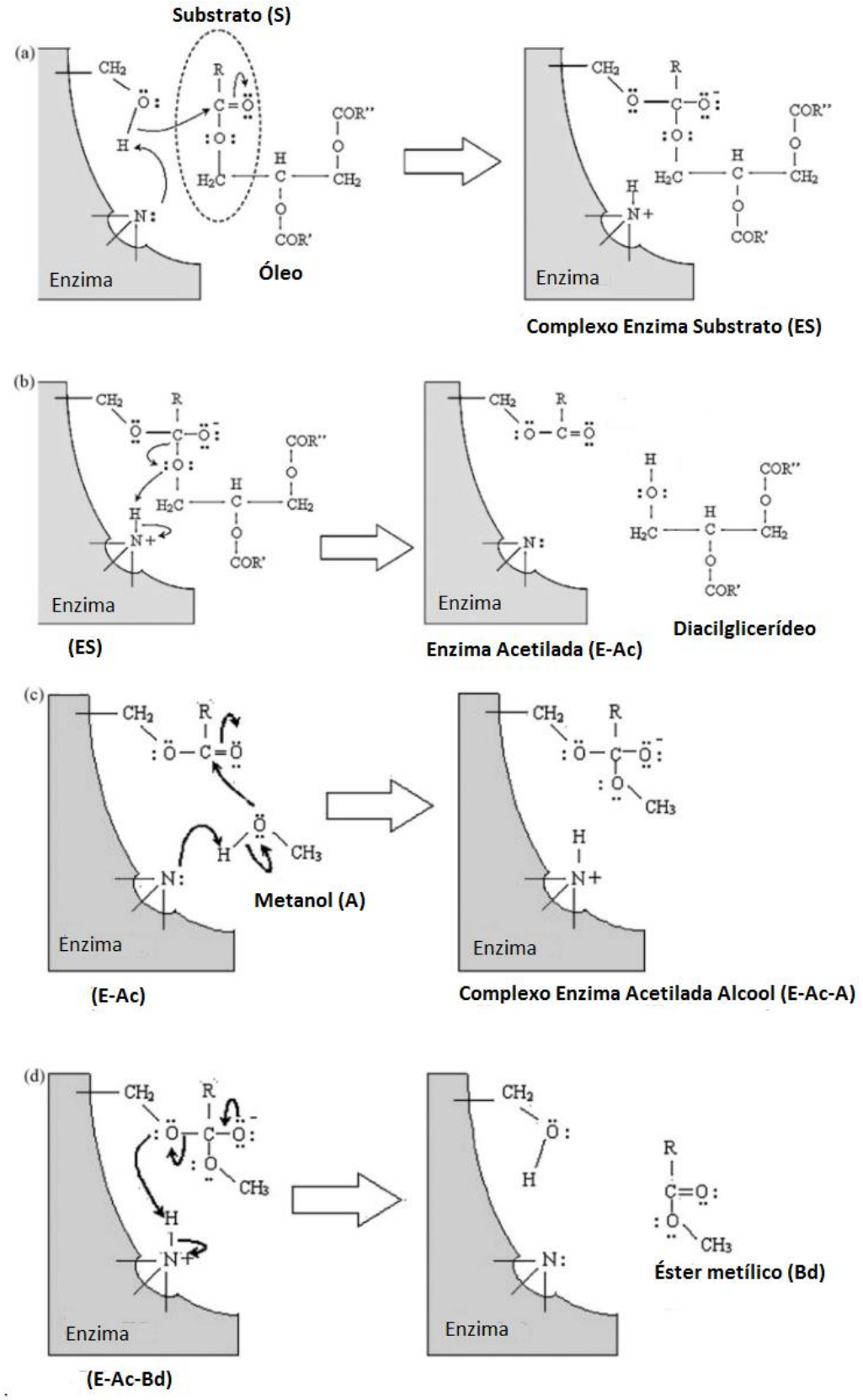
A Equação 19 descreve a velocidade de reação inicial na ausência de qualquer inibição pelo produto (AL-ZUHAIR; LING; JUNG, 2007).

### 3.3.3 Mecanismo da reação de transesterificação enzimática

O mecanismo mais aceito da reação da transesterificação enzimática obedece ao modelo Ping-Pong Bi Bi, levando em conta a inibição da enzima pelo álcool e a presença de mais de um substrato (PRICE, 2014; FEDOSOV, 2013). Neste mecanismo a lipase é capaz de gerar um resíduo nucleofílico para catálise da reação pela tríade ácido-base-nucleófilo, formada pelos aminoácidos aspartato ou glutamato (ácido), histidina (base) e serina (nucleófilo) respectivamente, presentes no centro ativo da enzima. Os resíduos formam uma rede de transmissão de carga para polarizar e ativar o nucleófilo (serina), que ataca o substrato, formando um intermediário covalente, que é, então, hidrolisado, e, assim, regenera a enzima livre e libera os produtos da reação (PRICE, 2014).

O mecanismo proposto por Al-Zuhair, Ling e Jun (2007) baseado no modelo cinético de Ping-Pong BiBi está demostrado na Figura 9 para produção de biodiesel a partir de triaglicerídeo genérico e metanol.

Figura 9 - Mecanismo proposto por Al-Zuhair, Ling e Jun, 2007




Fonte: “Adaptado de” Al-Zuhair, Ling e Jun, 2007.

A primeira parte do mecanismo de catálise é a quebra da ligação do éster e a formação do intermediário acil-enzima. No primeiro passo (a), o radical hidroxil da serina (nucleófilo) se torna mais ativo quando a histidina, a base da tríade catalítica, o desprotona e o polariza, aumentado sua reatividade, enquanto o resíduo ácido (aspartato ou glutamato) estabiliza este grupo desprotonado durante o ciclo reacional. Consequentemente, o grupo hidroxil da serina é capaz de atacar o substrato no carbono do grupo carbonila, formando um intermediário tetraédrico. A carga negativa do intermediário tetraédrico é estabilizada pelo oxiânion $NH^+$, contribuindo para distribuição de carga.

Em seguida (b), um próton do ácido conjugado da histidina é transferido para o oxigênio alquílico do substrato, causando a quebra da ligação do éster, a liberação de um acilglicerídeo/ glicerol e a formação de um intermediário acil-enzima. Se o substrato é triaglicerídeo (TG), então há a liberação de um diglicerideo (DG); se o substrato for um DG, então há a liberação de um monoglicerídeo (MG); se o substrato for um MG, um glicerol será liberado.

A próxima etapa (c) é a esterificação do grupo acil remanescente ligado à enzima pelo álcool, levando à formação e liberação de um éster alquílico. Inicialmente, o grupo hidroxila do álcool é desprotonado pela histidina, aumentando a reatividade deste grupo. Na sequência, o átomo de carbono do grupo carbonila ligado à enzima é atacado pelo álcool desprotonado, formando um segundo intermediário tetraédrico estabilizado pelo oxiânion da histidina.

Por fim (d), o oxigênio do grupo hidroxil da serina é protonado pela histidina, resultando na liberação do produto final (éster alquílico) e na regeneração do sítio ativo da enzima (AL-ZUHAIR; LING; JUNG, 2007).

### 3.3.4 Variáveis que influenciam a transesterificação enzimática

A reação de transesterificação enzimática depende de diferentes fatores como: temperatura, razão molar de óleo/metanol, tempo de reação, quantidade de água e cossolvente. A melhor condição para a reação de transesterificação enzimática depende do tipo de substratos, do tipo de óleo e álcool, da lipase utilizada e das condições de processo utilizadas, sendo necessário a determinação desta condição para a obtenção de um processo eficiente. Portanto os tópicos a seguir apresentam as influências destes diferentes fatores.

#### *3.3.4.1 Efeito da razão molar*

A razão molar metanol/óleo teórica da reação de transesterificação é de 3 mol de

metanol para 1 mol de triglicerídeo. Entretanto a reação de transesterificação é reversível e um excesso de metanol favorece a conversão em biodiesel, pois desloca o equilíbrio da reação para o sentido dos produtos. Na produção de biodiesel com catálise inorgânica básica com NaOH, normalmente, é usada a razão molar de 6:1, porém, na transesterificação enzimática, o excesso de álcool pode causar tanto uma inibição competitiva, como uma inativação irreversível da enzima devido ao efeito desestabilizador causado, especialmente, por álcoois de cadeia curta, como o metanol. Por isso, normalmente, na transesterificação enzimática, não é utilizada uma razão molar metanol/óleo maior do que 4:1 (KNOTHE et al., 2006; PRICE, 2014).

Wang et al. (2017) relataram grande diminuição na conversão quando a razão molar aumenta de 3:1 para 4:1. Já nos estudos de Halim e Kamaruddin (2008) e Royon et al. (2007) não há um aumento significativo da conversão com razões molares acima de 4:1 e 3,6:1, respectivamente. No entanto, o aumento da concentração de metanol aparentemente não provoca desativação da enzima Novozyme 435® utilizada nos trabalhos, que ocorre na maioria dos casos. Isto porque os autores utilizaram cossolvente na reação o que ajuda a evitar a desnaturação da enzima, já que diminui a concentração de metanol no meio. Outra estratégia adotada pelos autores foi adicionar o metanol em etapas. Na Tabela 4, é apresentado um resumo do efeito da razão molar de metanol/óleo na conversão dos trabalhos citados e dos autores Kuepethkaew et al.

Tabela 4 - Efeito da razão molar

| Lipase | Triglicerídeo | T(°C) | Solvente | t (h) | r* | Conversão (%) | Referência |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Novozyme 435® | Óleo de soja | 40 | - | 10 | 1:1 | 3 | Du et al. (2004) |
| | | | | | 2:1 | 8 | |
| | | | | | 3:1 | 32 | |
| Novozyme 435® | Óleo de palma | 40 | *Terc*-butanol | 12 | 3: 1 | 58 | Halim e Kamaruddin (2008) |
| | | | | | 4:1 | 72 | |
| | | | | | 8:1 | 75 | |
| *Hepatopancreas* | Óleo de palma | 35 | - | 16 | 3:1 | 80 | Kuepethkaew et al. (2017) |
| | | | | | 4:1 | 85 | |
| | | | | | 5: 1 | 77 | |
| Novozyme 435® | Óleo de algodão | 50 | *Terc*-butanol | 5 | 2,6:1 | 72 | Royon et al. (2007) |
| | | | | | 3,6:1 | 80 | |
| | | | | | 6:1 | 80 | |
| *Lipase MAS1* | Óleo de cozinha usado | 40 | - | 12 | 2:1 | 64 | Wang et al. (2017) |
| | | | | | 3:1 | 88 | |
| | | | | | 4:1 | 34 | |

Fonte: Autora
Legenda: *r = razão molar metanol/óleo

Pode-se observar pela Tabela 4, que valores de razão molar menor ou igual a 3:1 resultam em menor conversão independentemente do tipo de enzima. Portanto, a razão molar ótima de metanol/óleo está restrita entre dois efeitos: a não desnaturação da enzima e promover a conversão de produtos.

#### *3.3.4.2 Efeito da adição de cossolvente*

Na maioria das aplicações industriais, as enzimas são utilizadas predominantemente em meios aquosos. Entretanto, reações em meios orgânicos (polares/apolares) têm demonstrado vantagens para a síntese bio-orgânica. Devido à baixa solubilidade de muitos compostos orgânicos em água, reações paralelas indesejadas e equilíbrio-termodinâmico desfavorável, a água se torna um meio reacional pobre para muitas reações de biossíntese. Diversas abordagens foram desenvolvidas para tornar os processos enzimáticos aptos ao uso em meios orgânicos, dentre elas: uso de cossolvente miscível em água, misturas bifásicas solvente-água, micelas reversíveis e solventes orgânicos anidros. Entretanto, para uso destas técnicas, é necessário conhecer os efeitos causados pelos solventes nas enzimas, uma vez que solventes orgânicos tendem a ocasionar a desnaturação enzimática (ZAKS, 2010).

A catálise enzimática é baseada nas interações formadas na ligação enzima-substrato. A força das interações intermoleculares determina a intensidade da ligação entre ligantes e receptores, como no caso de substratos ligados às enzimas. Em sistemas biológicos, a energia de ligação é determinada pela diferença da energia das moléculas em solução, que interagem com o solvente, e as moléculas ligadas na forma de complexos, que interagem entre si.

Desta maneira, quando o meio aquoso é substituído por um meio orgânico, as características físico-químicas do meio são alteradas e, portanto, a energia livre da ligação enzima-substrato também é alterada, afetando a especificidade da enzima e a atividade da catálise enzimática (ZAKS, 2010).

Normalmente, enzimas colocadas em solventes orgânicos retêm sua esterosseletividade e podem ser usadas para síntese. Entretanto, na transição de meio aquoso para solventes orgânicos, algumas enzimas apresentam mudanças na enantiosseletividade. Por exemplo, esterificações catalisadas em solventes orgânicos são mais enantiosseletivas que a correspondente reação hidrolítica em água (ZAKS, 2010).

O conhecimento da conformação da proteína em ambientes com presença de solventes orgânicos é crucial para aplicação da enzima em catálise, podendo esta ser alterada pela

presença e a interação com solventes, como, por exemplo, a utilização de solventes orgânicos anidros no meio reacional, que podem promover aumento significativo na estabilidade da enzima, em particular, sua estabilidade a temperatura (termoestabilidade) (ZAKS, 2010).

Na transesterificação enzimática a adição de cossolvente é feita para diminuir a resistência na transferência de massa, que ocorre na reação devido à baixa miscibilidade do metanol no óleo. A utilização de um cossolvente apropriado diminui o número de fases ou melhora a emulsificação do sistema, aumentando a interação dos reagentes, e, assim, aumentando a conversão da reação. Além disso, o cossolvente elimina a necessidade de adicionar o metanol em etapas, pois diminui a concentração do álcool de cadeia curta prejudicial à enzima.

Halim e Kamaruddin (2008) mostram que o *terc*-butanol é o melhor cossolvente ao utilizar-se a Novozyme 435®, obtendo uma conversão muito maior quando comparado aos outros solventes testados. A quantidade de *terc*-butanol a ser utilizado na reação foi testada por Royon et al. (2007), que relata que, quanto mais *terc*-butanol, maior a conversão da reação. Já Chen et al. (2009), escolheu o hexano como cossolvente, mostrando que quanto mais hexano, com até 15% em massa em relação à massa de óleo, maior a conversão em biodiesel. O efeito de diferentes cossolventes na conversão dos trabalhos citados está demostrado na Tabela 5.

Tabela 5 - Efeito de diferentes cossolventes

| Lipase | Triglicerídeo | T (°C) | Agua *[a] | t (h) | r *[b] | Solvente | Conversão (%) | Referência |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Novozyme 435® | Óleo de palma | 40 | - | 12 | 3:1 | *Terc*-butanol | 61 | Halim e Kamaruddin (2008) |
| | | | | | | Acetona | 40 | |
| | | | | | | Acetonitrila | 30 | |
| | | | | | | Hexano | 6 | |
| | | | | | | *Iso*-octano | 5 | |
| | | | | | | Heptano | 4 | |
| Novozyme 435® | Óleo de algodão (18g) | 50 | - | 12 | 6:1 | *Terc*butanol*[c] | | Royon et al. (2007) |
| | | | | | | 32,5 | 96 | |
| | | | | | | 26,5 | 95 | |
| | | | | | | 19 | 89 | |
| | | | | | | 11 | 82 | |
| | | | | | | 0 | 0 | |
| *Candida sp. 99-125* | Óleo de cozinha usado | 40 | 10 | Cont *[d] | 1:1 | Hexano *[e] | | Chen et al. (2009) |
| | | | | | | 0 | 64 | |
| | | | | | | 5 | 72 | |
| | | | | | | 10 | 86 | |
| | | | | | | 15 | 87,5 | |

Fonte: Autora
Legenda: *[a] Água = % em massa de água em relação a massa de óleo;
*[b] r = razão molar metanol/óleo;
*[c] *Terc*-butanol = % em volume de *terc*-butanol em relação ao volume de óleo;
*[d] Cont. = Contínuo 1 mL/min;
*[e] Hexano = % em massa de hexano em relação a massa de óleo.

Para a transesterificação, cossolventes hidrofílicos, aqueles que tem atração pela água, como *terc*-butanol, acetona e acetonitrila mostram ser favoráveis à reação, pois os reagentes ficam em uma única fase. Isso não acontece com o uso de cossolventes hidrofóbicos (solventes apolares, como hexano, *iso*-octano e heptano), já que o metanol não possui solubilidade alta neste tipo de solvente (HALIM; KAMARUDDIN, 2008).

### *3.3.4.3 Efeito da adição de água*

A adição de água na reação de transesterificação enzimática pode melhorar ou piorar a conversão, dependendo da enzima, isto porque algumas lipases possuem ativação interfacial orgânico-aquosas e outras não. Nas lipases que possuem ativação interfacial, a água ajuda a enzima a manter sua conformação tridimensional ativa, contribui para sua integridade estrutural, polaridade do sítio ativo e estabilidade (YOU et al., 2013).

Em Chen et al. (2009), a adição de água foi crucial para uma boa conversão, passando

de 37% sem adição de água para uma conversão de 88% com 10% em massa de água em relação a massa de óleo, utilizando a lipase de *Candida sp. 99-125*, uma vez que esta necessita de água para manter sua estrutura tridimensional e sua atividade. Porém, quando a porcentagem de água ultrapassa 10% ocorrem problemas na transferência de massa, diminuindo a conversão. Kuepethkaew et al. (2017) obtiveram o melhor resultado utilizando 3% em massa de água em relação à massa de óleo, atingindo uma conversão de quase 94%. Também, You et al. (2013), que utilizaram a lipase de *B. cepacia*, relataram conversão de 82% com 7% de água. Segundo os autores, utilizar uma porcentagem maior de água favorece a hidrólise, o que diminui a conversão em biodiesel. Para a lipase *Candida antártica* imobilizada, utilizada em Shimada et al. (1999), a água desfavoreceu a conversão da reação, isto porque a água favorece a hidrólise dos triglicerídeos. A Tabela 6 mostra o efeito de diferentes quantidades de água em transesterificações.

Tabela 6 - Efeito da adição de água

| Lipase | Triglicerídeo | T (°C) | Solvente *[a] | t (h) | r *[b] | Agua *[c] | Conversão (%) | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Candida sp. 99-125* | Óleo de cozinha usado | 40 | 15% hexano | Contínuo 1ml/min | 1:1 | 0 | 37 | Chen et al. (2009) |
| | | | | | | 5 | 74 | |
| | | | | | | 10 | 88 | |
| | | | | | | 15 | 83 | |
| *Hepatopancreas* | Óleo de palma | 35 | - | 16 | 4:1 | 1 | 83 | Kuepethkaew et al. (2017) |
| | | | | | | 2 | 88 | |
| | | | | | | 3 | 93,97 | |
| | | | | | | 4 | 70 | |
| *Candida antartica* imobilizada | Mistura óleos de soja e colza | 30 | - | 24 | 1:1 | 0 | 31,9 | Shimada et al. (1999) |
| | | | | | | 0,2 | 10,5 | |
| | | | | | | 0,7 | 7,5 | |
| *B. cepacia* | Óleo de jatropha | 30 | - | 30 | 2,4g*[d] | 1 | 13 | You et al. (2013) |
| | | | | | | 4 | 68 | |
| | | | | | | 7 | 82 | |
| | | | | | | 8 | 80 | |

Fonte: Autora
Legenda: *[a] Solvente = % em massa de solvente em relação de óleo;
*[b] r = razão molar metanol/óleo;
*[c] Água (%) = % em massa de água em relação a massa de óleo;
*[d] 2,4g = 2,4g de metanol adicionados a cada 3h em 10 g de óleo.

Segundo Price (2014), quanto maior o teor de água maior área interfacial, por outro lado, o excesso de água promove a reação de hidrólise, formando mais ácidos graxos livres. Portanto, o teor ótimo de água está entre maximizar a quantidade de enzima ativa

interfacialmente e minimizar a hidrólise.

#### *3.3.4.4 Efeito da quantidade de enzima*

A quantidade de enzima utilizada na reação influencia na conversão em biodiesel obtido, aumentando com uma maior quantidade de enzima, e depois estabilizando acima de certo valor. A quantidade de enzima pode ser representada em porcentagem em massa em relação à massa de óleo ou na forma de atividade enzimática em unidades de *U/g,* que representam a quantidade de enzima necessária para produzir 1 µmol de éster alquílico ácido por minuto (*U*), sob condições padronizadas de reação.

Kueperthaew et al. (2017) determinaram que a quantidade ideal de enzima foi de 70 *kU/g,* obtendo conversão de 82%. Já Halim e Kamaruddin (2013) relataram que a quantidade ideal de enzima foi de 10% em massa em relação à massa de substrato, sendo que, acima deste valor não houve aumento significativo da conversão. O efeito da quantidade de enzima adicionada na reação na conversão dos trabalhos citados e de outros está demonstrado na Tabela 7.

Tabela 7 - Efeito da quantidade de enzima adicionada na reação

| Lipase | Triglicerídeo | r *[a] | T (°C) | Agua *[b] | t (h) | Enzima | Conversão (%) | Referência |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | kU/g | | |
| *Hepatopancreas* | Óleo de palma | 3:1 | 35 | 1 | 16 | 20 | 45 | Kuepethkaew et al (2017). |
| | | | | | | 60 | 78 | |
| | | | | | | 70 | 82 | |
| | | | | | | 80 | 81 | |
| | | | | | | U/g | | |
| Lipase *MAS1* | Óleo de cozinha usado | 3:1 | 40 | - | 24 | 40 | 50 | Wang et al. (2017) |
| | | | | | | 60 | 63 | |
| | | | | | | 80 | 90 | |
| | | | | | | 100 | 90 | |
| | | | | | | %massa*[c] | | |
| Novozyme 435® | Óleo de palma | 4:1 | 40 | - | 12 | 2 | 64 | Halim e Kamaruddin (2008) |
| | | | | | | 4 | 73 | |
| | | | | | | 10 | 80 | |
| | | | | | | 15 | 81 | |
| | | | | | | %massa*c | | |
| *B. cepacia* imobilizada | Óleo de jatropha | 2,4g*[d] | 30 | 7 | 30 | 2 | 49 | You et al. (2013) |
| | | | | | | 8 | 87 | |
| | | | | | | 10 | 92 | |
| | | | | | | 14 | 93 | |

Fonte: Autora
Legenda: *[a] r = razão molar metanol/óleo;
*[b] Água (%) = % em massa de água em relação a massa de óleo;
*[c] %massa = % massa de enzima em relação a massa de óleo;
*[d] 2,4g = 2,4g de metanol adicionados a cada 3h em 10 g de óleo.

Como o custo da enzima, tanto em sua forma pura como em forma de biocatalisadores industriais, é relativamente alto, é necessário encontrar a quantidade ideal de catalisador para que a reação tenha uma boa conversão sem utilizar uma quantidade elevada de enzima. Por isso, não é possível a generalização, pois a quantidade ideal de biocatalisador depende dos substratos e condições do processo.

### *3.3.4.5 Efeito da temperatura*

Diferentes tipos de lipases podem ser utilizados na reação de transesterificação, e cada uma delas tem sua temperatura ótima para a reação, que normalmente varia entre 30 e 45°C. Temperaturas muito altas desnaturam a enzima, rompendo as interações intermoleculares da mesma, perdendo sua atividade catalítica (PRICE, 2014; WANG et al, 2017).

No trabalho de Kuepethkaew et al. (2017), foi utilizada a lipase *hepatopancreas* para a

transesterificação do óleo de palma, sendo observado um aumento de 15% na conversão de biodiesel quando se elevou a temperatura de 30 para 45°C, podendo-se observar que temperaturas mais altas diminuíram a conversão devido à desativação da lipase pelo calor. A lipase *masi*, utilizada por Wang et al. (2017), apresenta temperatura ótima de 30°C, obtendo conversão de 95%. Na temperatura de 45°C a conversão caiu drasticamente, provavelmente pela desativação da enzima causada pelo aumento da temperatura. You et al. (2013) utilizaram a lipase de *B. cepacia* imobilizada e relataram que a conversão de biodiesel aumentou com o aumento de temperatura até 35°C, chegando a 94%, e, depois disso caiu. A lipase Novozyme 435®, a mesma utilizada neste trabalho, teve conversões baixas nas condições utilizadas em Shimada et al. (1999), com conversão de 33% na temperatura de 40°C. Na Tabela 8 é apresentado um resumo do efeito da temperatura na conversão da reação dos diferentes trabalhos citados.

Tabela 8 - Efeito da temperatura

| Lipase | Triglicerídeo | r*[a] | Agua *[b] | t (h) | T (°C) | Conversão (%) | Referencia |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| *Lipse de Hepatopancreas* | Óleo de palma | 4:1 | 3 | 16 | 30 | 82 | Kuepethkaew et al. (2017) |
| | | | | | 45 | 97 | |
| | | | | | 50 | 85 | |
| Novozyme 435® | Mistura de óleos de soja e colza | 1:1 | - | 24 | 20 | 31 | Shimada et al. (1999) |
| | | | | | 40 | 33 | |
| | | | | | 60 | 32 | |
| Lipase *MAS1* | Óleo de cozinha usado | 3:1 | - | 24 | 30 | 95 | Wang et al. (2017) |
| | | | | | 40 | 90 | |
| | | | | | 45 | 40 | |
| *Lipase de B. cepacia imobilizada* | Óleo de jatropha | 2,4g*[c] | 7 | 30 | 25 | 91 | You et al. (2013) |
| | | | | | 35 | 94 | |

Fonte: Autora
Legenda: *[a] r = razão molar metanol/óleo;
*[b] Água = % de massa de água em relação a massa de óleo;
*[c] 2,4 g = 2,4 gramas de metanol adicionados a cada 3 horas.

Pode-se observar, nos diferentes trabalhos, que a temperatura ótima das diferentes enzimas está entre 30 e 45°C. Nestas temperaturas ocorre um aumento na frequência de colisão da enzima e substrato, formando mais complexos enzima-substrato, aumentando a constante cinética de reação e a conversão. Já em temperaturas acima de 45°C a conversão diminui com diferentes lipases, isto acontece pois ocorre a desnaturação da enzima.

### *3.3.4.6 Efeito do tempo de reação*

Geralmente, um maior tempo de reação favorece a reação de transesterificação. Por ser uma reação lenta é necessário encontrar o tempo de reação ideal para que o processo seja competitivo. Wang et al. (2017) mostraram que o tempo de reação foi de 8h, com conversão de 90% utilizando a lipase *MAS1*. Já para a enzima *hepatopancreas*, utilizada em Kueperthaew et al. (2017), o tempo de reação foi de 16h com 70% de conversão em biodiesel. Estes tempos de reação ainda são muito elevados quando comparados com o tempo de reação da transesterificação por catálise alcalina.

### *3.3.4.7 Efeito da quantidade de ácido graxo livre*

A quantidade de ácido graxo livre está relacionada com a qualidade da matéria-prima utilizada. Uma das vantagens da utilização de enzimas como catalisador na produção de biodiesel é que a mesma é tolerável à quantidade de AGL da matéria prima, podendo fazer uso de materiais mais baratos (AVHAD; MARCHETTI, 2015). Halim e Kamaruddin (2013) utilizaram a enzima Novozyme 435® para comparar a conversão obtida com o óleo de cozinha usado e óleo refinado, e obtiveram 88 e 96%, respectivamente. De acordo com os autores, esta diferença deu-se pela maior quantidade de água contida no óleo de cozinha usado, favorecendo a hidrólise do óleo.

Segundo Fedosov (2013), a transesterificação de óleo refinado utilizando metanol pela lipase B de *Candida antarctica* é lenta, pois triglicerídeos são substratos menos reativos. Conversões de 95% requerem de 1,5 a 6 dias, dependendo da temperatura, concentração de enzima, inibição do glicerol, entre outras coisas. Ainda segundo o autor, outros substratos como ácidos graxos livres, diglicerídeos e monoglicerídeos são consumidos mais rapidamente, cerca de 1 a 2 horas, isso significa que óleo residual é uma melhor matéria prima para a lipase, pois apresenta uma concentração maior de ácidos graxos livres.

### *3.3.4.8 Reutilização da enzima*

As enzimas imobilizadas, normalmente, podem ser reutilizadas com facilidade, pois sua separação do meio reacional é feita de modo simples. A reutilização depende da atividade residual da enzima em cada ciclo de transesterificação e isto fica a cargo de todas as condições

de reação utilizadas, pois a enzima pode desativar com o metanol, com o cossolvente utilizado e temperatura (HERNÁNDEZ-MARTIN; OTERO, 2007).

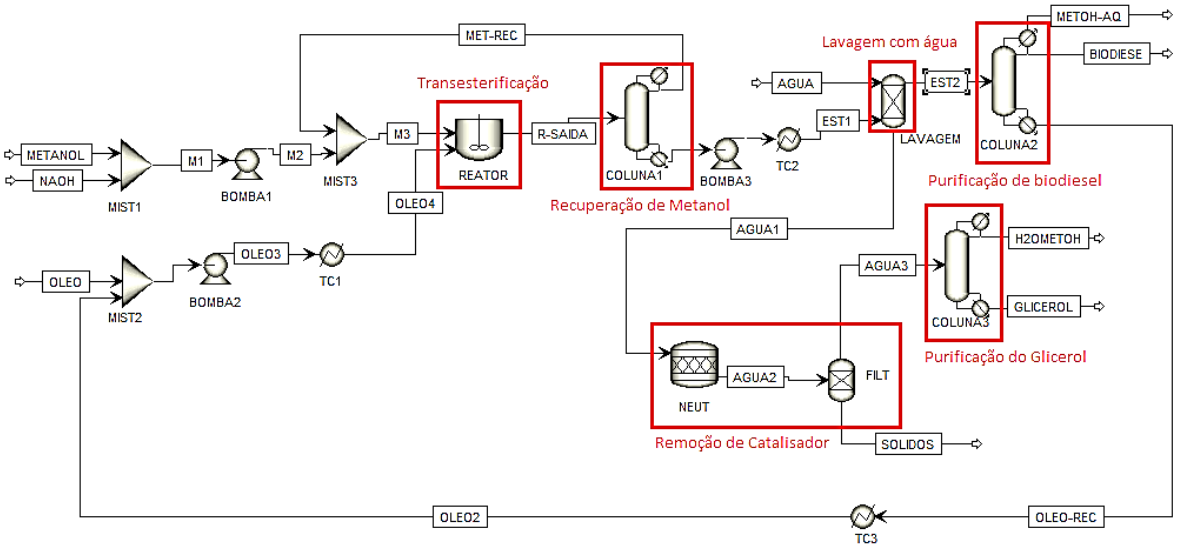
Wang et.al (2017) reportaram uma diminuição de 33% de conversão em biodiesel quando a enzima lipase *MAS1* foi reutilizada em quatro ciclos, nas condições de 30°C, razão molar de 1:3 óleo de cozinha usado/metanol e 24 horas de reação. Du et. al (2004) estudaram a transesterificação do óleo de soja com a lipase Novozyme 435® e obtiveram uma diminuição de aproximadamente 22% da atividade residual da enzima, quando utilizada por quatro ciclos consecutivos com adição em três etapas de metanol, a 40°C e com 4% em massa de enzima em relação à massa de óleo.

Assim como todos os efeitos, a reutilização da enzima depende também dos reagentes utilizados e da enzima escolhida para a reação, o que deve ser avaliado para cada processo específico.

## 3.4 DESCRIÇÃO DO PROCESSO CONVENCIONAL QUÍMICO

O processo de produção de biodiesel mais utilizado atualmente é a transesterificação química com catalisador homogêneo básico, que se inicia com a mistura do hidróxido de sódio ou de potássio, utilizados como catalisador, com o álcool formando um íon alcóxido, o metóxido ($^{-}OCH_3$), se for utilizado o metanol. Depois, esta mistura é adicionada ao reator juntamente com o triglicerídeo, onde é agitada por um certo tempo a uma determinada temperatura, fazendo com que o íon metóxido ataque o óleo, formando, assim, um intermediário tetraédrico, que é subsequentemente separado a um diglicerídeo e um éster metílico. O diglicerídeo é atacado novamente, formando um monoglicerídeo e mais um éster metílico, para depois formar glicerol e o terceiro éster metílico (Figura 10, transesterificação) (CROCKER, 2010; KNOTHE et al., 2006).

Figura 10 - Fluxograma do processo da produção via catálise homogênea básica




Fonte: “Adaptado de” Aspen Technology, 2012.

Geralmente, reatores do tipo batelada são utilizados em plantas de pequeno porte, mas a maioria das plantas com produção acima de 4 milhões de litros/ano utilizam processos de fluxo contínuo com reatores de leito agitado (RCLA) ou reatores de fluxo pistonado (plug flow). A reação, muitas vezes, é feita em dois estágios de RCLA, em que, no primeiro, é adicionado cerca de 80% do álcool e do catalisador, antes de ir para o segundo estágio a glicerina é removida do produto formado deste reator. No segundo estágio, são adicionados os 20% restantes de álcool com catalisador e o produto formado no primeiro reator. Com este sistema pode-se atingir uma reação completa utilizando menos álcool que os processos realizados em uma única etapa (KNOTHE et al., 2006).

Um fator que interfere na velocidade da reação é a limitação na transferência de massa do processo, devido à baixa solubilidade dos reagentes entre si, fazendo a reação ser mais lenta. Para acelerar a transesterificação, pode-se utilizar algumas técnicas, como a adição de cossolvente, aumentando a solubilidade do metanol no óleo, e a utilização de microondas ou radiação ultrassônica (KNOTHE et al., 2006).

Após a reação, o glicerol é removido dos ésteres metílicos por meio de decantadores ou centrífuga, sendo que a separação ocorre rapidamente devido à baixa solubilidade do glicerol na fase éster. A eficiência da separação é diminuída pelo excesso de metanol que tende a se comportar como solvente, mas ele é necessário para que não ocorra a reversão da transesterificação. Depois da adição do ácido para neutralizar o catalisador e quebrar o sabão

formado durante a reação, o metanol é separado do éster metílico por um estirpador de metanol, geralmente a vácuo ou com um evaporador de filme líquido descendente (falling film) (Figura 10, recuperação de metanol). Na etapa de neutralização, o ácido adicionado reagirá com os sabões formando sais solúveis e ácido graxo, sendo que os sais são removidos por lavagem com água e os ácidos graxos permanecem no biodiesel. Além da remoção dos sais formados na reação do sabão com o ácido, a lavagem aquosa também retira qualquer quantidade de catalisador, sabões, metanol e glicerol livre do produto final (Figura 10, Lavagem com água). A neutralização preliminar permite a diminuição da quantidade de água utilizada na lavagem e minimiza a formação de emulsão de biodiesel/água. Depois, o biodiesel passa por um processo de evaporação a vácuo para a remoção de qualquer água residual (Figura 10, Purificação de biodiesel) (KNOTHE et al., 2006).

A fase retirada no decantador contém glicerol, metanol excedente e a maior parte do catalisador e do sabão formado. A glicerina com metanol tem baixo valor de mercado, pois é um efluente tóxico e perigoso. Portanto, é feito o refino do glicerol ao se adicionar ácido para quebrar os sabões formados, e, assim como na fase biodiesel, são formados ácidos graxos e sais solúveis. Já que os ácidos graxos não são solúveis na mistura, ocorre a flotação dos mesmos, sendo facilmente separados da mistura (Figura 10, Remoção do catalisador). Os AGL podem ser reciclados se passarem por um processo de esterificação. Os sais podem precipitar, dependendo do meio, e serem retirados. Depois, o metanol presente no glicerol é removido por evaporação, obtendo-se um glicerol com pureza de aproximadamente 85%, podendo ser vendido a uma unidade de refino, onde passa por processo de destilação a vácuo ou de troca iônica, elevando sua pureza a 99,5-99,7% (Figura 10, purificação do glicerol) (KNOTHE et al., 2006).

O metanol removido nos processos passa por uma coluna de destilação para a remoção de água que o mesmo pode ter absorvido, para que possa ser reutilizado no processo. Se o álcool utilizado formar azeótropo com a água, como é o caso do etanol e do *iso*-propanol, esta etapa torna-se complicada, sendo necessário a utilização de uma peneira molecular (KNOTHE et al., 2006).

O processo descrito é o mais utilizado atualmente, entretanto as maiores desvantagens desta rota comparada à enzimática são os problemas ambientais, como a grande quantidade de água de lavagem na purificação dos produtos e geração de grandes volumes de resíduos. A rota enzimática com enzima imobilizada é considerada uma técnica promissora por utilizar condições amenas de reação, flexibilidade de matéria prima, facilidade na purificação e na separação dos produtos e baixo volume de resíduos (FERNANDEZ; LIU; ZHAO, 2016).

# 4 MATERIAIS E MÉTODOS

Visando tanto a transesterificação enzimática, quanto a caracterização da matéria-prima e do catalisador, foram utilizados os materiais, equipamentos e metodologias descritos nos itens 4.1, 4.2 e 4.3.

## 4.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA

Para a obtenção do biodiesel, o processo requer a caracterização da matéria-prima, feita pela determinação do índice de acidez, determinação do índice de saponificação e determinação da massa molar média do óleo.

### 4.1.1 Materiais utilizados na caracterização da matéria prima

Para esta etapa foram utilizados: óleo de soja refinado da marca Lisa, álcool etílico anidro (Merck), fenolftaleína, solução alcoólica de hidróxido de potássio (KOH) 0,5mol/L, solução de ácido clorídrico (HCl) 0,5mol/L e balança de precisão Marte Científica modelo ATY224 (precisão de 0,1 mg).

### 4.1.2 Determinação do índice de acidez

O índice de acidez é a quantidade de hidróxido de potássico (KOH), em mg, necessária para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em um grama de óleo. A determinação foi feita de acordo com a metodologia proposta pela AOCS (1998a) ensaio 5a-40, adicionando-se 10g de óleo de soja em um erlenmeyer de 250 mL, 75 mL de álcool etílico anidro neutralizado e gotas de fenolftaleína, sendo que a solução foi agitada em seguida. Depois foi feita a titulação com solução alcoólica de KOH 0,5 mol/L e o índice de acidez foi calculado de acordo com a Equação 36.

$$IA = (c_{KOH} * M_{KOH} * V_{Tit} * f_{KOH})/m_{amostra} \quad (36)$$

Na Equação 36, *IA* representa o Índice de Acidez em mg de KOH/g de amostra, $c_{KOH}$ a concentração da solução alcoólica de KOH em mol/L, $M_{KOH}$ a massa molar do KOH em g/mol,

$V_{Tit}$ o volume gasto durante a titulação em mL, $f_{KOH}$ o fator de correção da solução de KOH e $m_{amostra}$ a massa de amostra de óleo pesada em gramas.

### 4.1.3 Determinação do índice de saponificação

O Índice de Saponificação expressa a quantidade de base, em mg, necessária para saponificar certa quantidade de óleo. Sua determinação foi feita de acordo com a metodologia proposta por AOCS (1998b), ensaio 3b-76, adicionando-se 4 g de óleo de soja em um erlenmeyer com boca esmerilhada de 250 ml, juntamente com 50 ml de solução de KOH 0,5 mol/l, sendo a solução deixada em refluxo por uma hora. Após esse período, a mistura foi resfriada e titulada com solução de HCl 0,5 mol/L.

Foi feito um branco, sem adição de óleo, e o índice de saponificação foi calculado de acordo com a Equação 37, tal qual *IS* representa o índice de saponificação em mg de KOH/ g de amostra, $V_B$ o volume gasto durante a titulação do branco em ml, $V_{Tit}$ o volume gasto durante a titulação da amostra em ml, $c_{HCl}$ a concentração da solução de HCl em mol/L, $M_{KOH}$ a massa molar de KOH em g/mol, $f_{HCl}$ o fator de correção da solução de HCl e $m_{amostra}$ a massa de óleo pesada em gramas.

$$IS = \frac{(V_B - V_{Tit}) * c_{HCl} * M_{KOH} * f_{HCl}}{m_{amostra}} \quad (37)$$

### 4.1.4 Determinação da massa molar média do óleo

A determinação da massa molar média do óleo foi determinada utilizando a Equação 38.

$$\overline{M}_{oleo} = \frac{3000 * M_{KOH}}{I_S - I_A} \quad (38)$$

A Equação 38 leva em consideração os índices de acidez (*IA)* e saponificação *(IS)* do óleo determinados previamente. Com isto, foi possível calcular a massa molar média do óleo ($M_{oleo}$) em g/mol.

## 4.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Neste item são apresentados os materiais e métodos utilizados para a determinação da atividade enzimática da Novozyme 435®, enzima utilizada no presente trabalho.

### 4.2.1 Materiais utilizados na determinação da atividade enzimática

Os materiais utilizados neste item foram: lipase imobilizada em resina acrílica da levedura *Candida antarctica* (E.C. 3.1.1.3), comercializada pela Novozyms®, com nome comercial de Novozyme 435®; ácido láurico; peneira molecular 4 °A (Sigma-Aldrich); álcool *iso*-propílico (Merck – pureza ≥ 99,5%); solução de KOH 0,05mol/L; fenolftaleína; agitador orbital Innova 43-Incubator Shaker Series; balança de precisão Marte Científica, modelo ATY224 (precisão de 0,1 mg) e centrífuga Sorvall® Biofuge primo R.

### 4.2.2 Métodos utilizados na determinação da atividade enzimática

A atividade enzimática da lipase utilizada neste trabalho foi determinada pela quantidade de enzima capaz de formar 1 µmol de produto por minuto a cada grama de enzima na reação de esterificação entre o ácido láurico e o álcool *iso*-propílico, conforme método descrito por Sereroglu et al. (2004).

Para esta determinação foram adicionados 100 mg de ácido láurico, 200 mg de peneira molecular 4 Å calcinada a 400°C por 4 horas e 50 mg de enzima em um erlenmeyer de 125 mL com boca esmerilhada. Depois, foram adicionados 4 mL de álcool *iso*-propílico, mantendo a solução sob agitação em um agitador orbital a 120 rpm e 60 °C por 15 minutos. Depois disso, foi feita uma centrifugação para separar a enzima e a peneira molecular da solução, e a fase líquida foi titulada com solução de KOH 0,05 mol/L, utilizando fenolftaleína como indicador. Foi feito um experimento em branco com o mesmo procedimento, porém sem a adição de enzima. Desta forma, foi possível determinar a atividade enzimática da Novozyme 435® pela Equação 39 (SEKEROGLU; FADILOGLU; IBANOGLU, 2004).

$$Atividade\ \left(\frac{U}{g}\right) = \frac{(V_B - V_{tit}) * C_{KOH} * f_{KOH}}{t * m_{enzima}} \tag{39}$$

Na Equação 39, *Atividade (U/g)* representa a atividade enzimática da enzima. Uma unidade de atividade enzimática (U/g) corresponde à quantidade de enzima capaz de formar 1 μmol de laurato de propila por minuto sob condições padronizadas de reação por grama de catalisador; $V_B$ (mL) de KOH branco representa o volume gasto na titulação sem inserção de enzima; *Vtit* (mL) de KOH após 15 min representa o volume gasto na titulação com inserção de enzima; $c_{KOH}$ (g / mL) a concentração da solução de KOH; $t$ (min) o tempo de reação e $m_{enzima}$ (g) a massa de enzima da amostra.

## 4.3 REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA

Os materiais e métodos utilizados para as reações de transesterificação enzimática estão demostrados neste item.

### 4.3.1 Materiais utilizados nas reações de transesterificação enzimática

Para as reações de transesterificação enzimática, foram utilizados os seguintes materiais: óleo de soja da marca Lisa; álcool metílico (Merck – pureza ≥ 99,8%); lipase imobilizada em resina acrílica da levedura *Candida antarctica* (E.C. 3.1.1.3), comercializada pela Novozyms® com nome comercial de Novozyme 435®; *terc*-butanol (Merck - pureza ≥ 99,5%); hexano; agitador orbital Innova 43-Incubator Shaker Series; balança de precisão Marte Científica, modelo ATY224 (precisão de 0,1 mg); centrífuga Sorvall® Biofuge primo R e pipeta eletrônica Brand (0,5-5 mL).

### 4.3.2 Método utilizado para a transesterificação enzimática

A reação de transesterificação foi realizada utilizando erlenmeyer de 125 ml com tampa, na qual foram adicionados 10 g de óleo, metanol a uma razão molar de metanol/óleo de 4:1 e 5% em massa de enzima em relação à massa de óleo. Para prevenir a desnaturação da enzima pelo álcool, o metanol foi adicionado após a adição da mesma.

A mistura reacional foi deixada em um agitador orbital com controle de temperatura a 30°C e 300 rpm por 48 horas. Depois, a mistura foi centrifugada por 15 minutos, e a fase superior foi separada e pesada. Posteriormente, os ésteres metílicos formados foram analisados por Cromatografia Gasosa, como descrito no item 4.4.2.

Nos próximos itens estão descritos os procedimentos utilizados para verificar a influência, na conversão da reação de transesterificação, da presença de cossolvente, do teor de água, da razão molar metanol/óleo, quantidade de enzima e o tempo de reação.

#### *4.3.2.1 Estudo da influência do cossolvente na reação de transesterificação enzimática*

A reação de transesterificação foi conduzida seguindo o procedimento no item 4.3.2, sendo acrescido, ao meio reacional, diferentes quantidades de cossolvente previamente escolhidos com base na revisão bibliográfica.

Os cossolventes, *terc*-butanol e hexano, foram testados em diferentes volumes em relação ao volume de óleo adicionado na reação de acordo com a Tabela 9. O cossolvente foi adicionado anteriormente à adição de metanol, para prevenir a desnaturação da enzima.

Tabela 9 - Volumes dos cossolventes adicionados na reação

| Solvente | Nomenclatura | Razão volumétrica* | Volume (mL) |
|---|---|---|---|
| Hexano | H81 | 8:1 | 1,35 |
| | H41 | 4:1 | 2,7 |
| | H21 | 2:1 | 5,4 |
| | H11 | 1:1 | 10,8 |
| | H14 | 1:4 | 43,2 |
| *Terc*-butanol | T201 | 20:1 | 0,54 |
| | T151 | 15:1 | 0,72 |
| | T101 | 10:1 | 1,08 |
| | T81 | 8:1 | 1,35 |
| | T41 | 4:1 | 2,7 |
| | T11 | 1:1 | 10,8 |
| | T14 | 1:4 | 43,2 |

Fonte: Autora
Legenda: *Razão volumétrica = volume de óleo/volume de cossolvente adicionado.

#### *4.3.2.2 Estudo da influência do teor de água*

Para o estudo da influência do teor de água na transesterificação enzimática foram feitos experimentos variando-se o volume de água destilada adicionado na reação, a fim de melhorar a conversão. O procedimento foi o mesmo utilizado nas seções 4.3.2 e 4.3.2.1. A água foi adicionada depois da adição do cossolvente em diferentes porcentagens em massa de água em relação à massa de óleo de 0,5%, 3% e 6%.

#### *4.3.2.3 Estudo da influência da razão molar*

Com o objetivo de verificar a influência da razão molar metanol/óleo na conversão, a reação de transesterificação enzimática foi conduzida em condições similares à descrita no item 4.3.2, levando-se em conta que a quantidade de metanol adicionado nesta etapa foi para se ter, no meio reacional, uma relação molar de 3:1 (metanol/óleo). Adicionou-se, também, ao meio reacional, o volume de cossolvente que proporcionou a melhor conversão em biodiesel, estudado no item 4.3.2.1.

#### *4.3.2.4 Estudo da influência da quantidade de enzima*

Para a determinação da influência da quantidade de enzima a ser adicionada na reação, foi utilizado o mesmo procedimento das seções 4.3.2 e 4.3.2.1, variando-se apenas a quantidade de enzima na reação. As quantidades de catalisador testadas foram de 0,3%; 0,5%; 0,8%; 1%; 2%; 3%; 2,5%; 3%; 3,5%; 4%; 4,5% e 5% com base na massa de óleo da reação.

#### *4.3.2.5 Estudo da conversão da reação ao longo do tempo*

O estudo da conversão em biodiesel ao longo do tempo para a reação de transesterificação enzimática foi feito utilizando-se o mesmo procedimento das seções 4.3.2, na presença de cossolvente, nas melhores condições de reação obtidas a 30°C. As amostras foram colocadas no agitador orbital e retiradas para análise dos ésteres formados nos tempos de 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6; 8; 10; 16; 20; 24; 28; 32; 36; 40; 44 e 48 horas.

## 4.4 DETERMINAÇÃO DOS ÉSTERES METÍLICOS

Neste item, serão apresentados os materiais e métodos utilizados na determinação dos ésteres metílicos.

### 4.4.1 Materiais utilizados na determinação dos ésteres metílicos

Os materiais utilizados na determinação dos ésteres metílicos foram: padrões dos ésteres metílicos - oleoato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%), linoleato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%), gama linolenato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%),

palmitato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%), palmitoleato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%), laurato metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%) e estereato de metila (Sigma-Aldrich, pureza ≥ 99%); hexano grau Hight Performace Liquid Chromatography (Sigma-Aldrich - pureza ≥ 95%); Cromatógrafo Gasoso Shimadzu modelo MDGC/GC-MS2010 com detector FID e coluna HT-5 (CG); balança de precisão Marte Científica modelo ATY224 (precisão de 0,1 mg) e pipeta eletrônica Brand (0,5-5 mL).

### 4.4.2 Métodos utilizados na determinação dos ésteres metílicos

A conversão da reação foi determinada por meio da análise dos ésteres metílicos por Cromatografia Gasosa em um Cromatógrafo Gasoso Shimadzu modelo MDGC/GC-MS2010 com detector FID e coluna HT-5. Neste método as amostras foram injetadas na coluna do equipamento e arrastadas por gás inerte, saindo em diferentes tempos de retenção de acordo com a interação de cada composto com a coluna. A detecção destes foi feita pelo detector por ionização de chama (FID), que é capaz de identificar a corrente gerada no eletrodo pela pirólise dos compostos orgânicos.

Foram injetados os padrões dos ésteres metílicos laurato, miristato, palmitoleato, palmitato, gama linolenato, linoleato, oleato e estereato diluídos em hexano grau *High Performace Liquid Chromatography* (HPLC) com concentração de 2 mg/mL para determinar os respectivos tempos de retenção. Foi feita uma mistura com os padrões com as massas mostradas na Tabela 10, sendo que elas foram diluídas em 9,25 ml de hexano, mantendo uma concentração máxima de 2 mg/mL para cada éster e formando uma solução de padrões com concentração conhecida.

Tabela 10 - Concentrações da solução de padrões

| Ester | Tempo de retenção (min) | Massa (mg) | Concentração (mg/mL) |
|---|---|---|---|
| Laurato de metila | 4,925 | 12,8 | 1,384 |
| Misristato de metila | 5,915 | 11,9 | 1,286 |
| Palmitoleato de metila | 7,05 | 13,1 | 1,416 |
| Palmitoleato de metila | 7,217 | 13,5 | 1,459 |
| ϒ-Linolenato de metila | 8,566 | 14,0 | 1,514 |
| Linoleato de metila | 8,779 | 18,3 | 1,978 |
| Oleato de metila | 8,861 | 7,3 | 0,789 |
| Estereato de metila | 9,218 | 10,4 | 1,124 |

Fonte: Autora

Em seguida, foram feitas nove diluições consecutivas de 3ml de amostra e 3 mL de hexano grau HPLC. As dez amostras foram injetadas no Cromatógrafo Gasoso (CG), sendo possível a construção das curvas de calibração (área versus concentração) de cada éster metílicos, apresentadas no apêndice A.

Para a análise da conversão dos diferentes ensaios, uma alíquota da massa da fase biodiesel obtido em cada ensaio foi diluída em hexano de grau HPLC, a fim de se obter uma concentração inferior a 2 mg/mL, e, posteriormente, injetadas no CG. Com os cromatogramas obtidos e as curvas de calibração de cada éster, foi possível calcular a concentração.

Esta, então, permitiu calcular a fração mássica de cada éster da alíquota com a Equação 40, tal qual, $f_i$ é a fração mássica do éster i, $v_a$ é o volume da alíquota em mL e $m_a$ é a massa da alíquota em mg.

$$f_i = \frac{C_{i,a} * v_a}{m_a} \tag{40}$$

Como a fração mássica de cada éster na alíquota é equivalente à massa da fase biodiesel ($m_e$) é possível calcular o número de mols de cada éster produzido ($n_i$), segundo a Equação 41.

$$n_i = \frac{f_i * m_e}{M_i} \ [mol] \tag{41}$$

A conversão da reação de transesterificação de cada ensaio foi determinada pela Equação 42, tal qual, $n_{óleo}$ é o número de mols de óleo alimentado.

$$X = \frac{\Sigma n_i}{3 * n_{óleo}} * 100 \ (\%) \tag{42}$$

## 4.5 SIMULAÇÃO NO PROGRAMA ASPEN PLUS®

Neste item, serão descritas as metodologias utilizadas na simulação do equilíbrio de fases e na simulação da proposta de processo via catálise enzimática utilizando o software ASPEN Plus® V10.

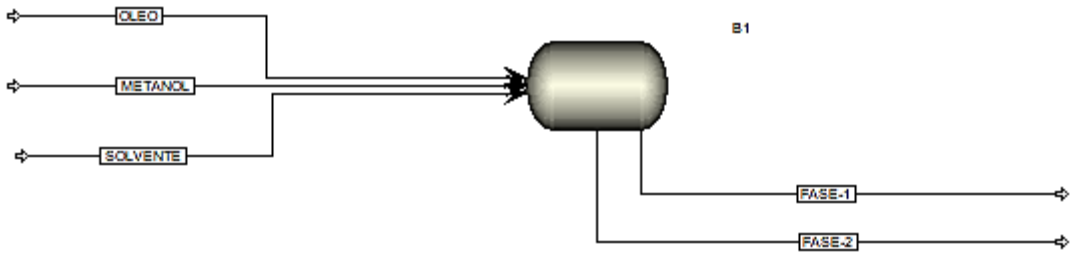
### 4.5.1 Método utilizado na simulação do equilíbrio de fases

Para a simulação do equilíbrio de fases no programa ASPEN Plus®, foi feito o digrama ternário líquido-líquido, tendo como modelo termodinâmico o método UNIFAC modificado (UNIF MOD) para o sistema metanol, cossolvente (hexano ou *terc*-butanol) e óleo. O banco de dados utilizado foi o APV100 Biodiesel, que contempla a maior parte dos componentes presentes no meio reacional.

O UNIFAC é um modelo preditivo baseado em contribuições da estrutura molecular das substâncias (GMEHLING et.al., 1998). Nesta etapa, foi considerado somente a trilinoleína, por ser o ácido graxo de maior quantidade no óleo de soja (cerca de 55% em massa).

Com o objetivo de verificar a distribuição do metanol e do óleo nas fases após a adição de cossolvente, efetuou-se uma análise de sensitividade para diferentes quantidades de cossolvente adicionadas. A Figura 11 mostra o fluxograma que representa o sistema utilizado para a análise. Foi considerado o uso de um decantador a 25°C e 1 bar.

Figura 11 - Fluxograma da simulação do equilíbrio de fases




Fonte: Autora

Na corrente de entrada de óleo, foi considerado uma vazão de 10 kg/h, com 55% em massa de trilinoleína, 35% de trioleína e 15% de tripalmitina, baseadas na composição do óleo de soja. A corrente de metanol foi calculada pela função *Calculator* dentro do programa, com a vazão de óleo como variável importada e a vazão molar de metanol como uma variável exportada, de acordo com a Equação 43.

$$Q_{Mol\ (metanol)} = 4 * Q_{Mol\ (óleo)} \tag{43}$$

Para calcular as diferentes quantidades em volume de cossolvente alimentada ao processo em relação ao volume de óleo, utilizou-se a função *Design Specs* dentro do ASPEN Plus®.

Com as repostas das correntes obtidas, foi possível observar como o metanol se distribui pelas duas fases formadas. Isto foi feito pela construção do gráfico da %molar de metanol (em relação a quantidade total) na fase que contém óleo versus a razão volumétrica volume de óleo/volume de cossolvente.

### 4.5.2 Métodos utilizados na proposta do processo via catálise enzimática

Neste item, é descrito o desenvolvimento do modelo que representa o processo de produção de biodiesel no software ASPEN Plus® V10. Para isto foi utilizado a metodologia de desenvolvimento conceitual de processos baseado em Turton et al. (2010). Assim como para estudar o equilíbrio de fases, na simulação do processo de produção de biodiesel, foi utilizado o modelo termodinâmico UNIFAC modificado.

A reação foi conduzida em um reator de conversão (RSTOIC) a 30°C e 1 bar. Para a alimentação do reator foi considerado os resultados experimentais, assim utilizou-se 10kg/h de óleo, com composição igual a 55% em massa de trilinoleína, 30% de tripalmitina e 15% de trilinoleína, razão molar de 4:1 metanol/óleo e razão volumétrica de 8:1 volume de óleo/volume de *terc*-butanol. As reações consideradas para o processo estão descritas nas equações 43, 44 e 45.

$$1\,Trilinoleína + 3\,Metanol \rightarrow 3\,Linoleato\ de\ metila + 1\,Glicerol \quad (43)$$

$$1\,Tripalmitina + 3\,Metanol \rightarrow 3\,Palmitato\ de\ metila + 1\,Glicerol \quad (44)$$

$$1\,Trioleína + 3\,Metanol \rightarrow 3\,Oleato\ de\ metila + 1\,Glicerol \quad (45)$$

A conversão utilizada foi de 76%, baseada nas conversões experimentais.

Na saída do reator, utilizou-se um pré-aquecedor, aquecendo a corrente até uma temperatura de 85°C, para a entrada o sistema de separação. A primeira etapa deste sistema é a separação do metanol e *terc*-butanol com a utilização de três flashs O primeiro especificando pressão de 1 bar e as pressões dos outros dois foram determinadas pela função *Optimization*, de modo a maximizar a recuperação dos álcoois, depois de calculadas, as pressões foram especificadas. Os três flashs também foram estabelecidos como adiabáticos e as fases válidas

como vapor-liquido-liquido. Saindo dos flashs, o metanol e *terc*-butanol são condensados até a totalidade e são reciclados ao reator.

A separação da glicerina foi simulada por uma coluna de extração, representando uma centrífuga, especificando que a glicerina sai pura desta etapa. A outra corrente que sai da centrífuga vai para uma coluna de destilação, as especificações da coluna estão demonstradas na Tabela 11.

Tabela 11 - Especificações da colune de destilação

| Coluna de destilação | |
|---|---|
| Número estágios | 11 |
| Prato de alimentação | 4 |
| Prato saída de biodiesel | 8 |
| Pressão | 50 mmHg |
| Razão de refluxo | 12 |
| Razão vazão de alim./saída do fundo | 0,3167 |

Fonte: Autora

A razão da vazão de alimentação/vazão de saída do fundo da coluna foi calculada pela soma de trilinoleína, tripalmitina e trioleína que entram na coluna dividido pelo fluxo total da corrente na função *Calculator* do programa ASPEN Plus®.

O óleo que sai do fundo da coluna foi utilizado para pré-aquecer a corrente que entra na coluna, especificando a diferença da temperatura de saída quente/fria em 5K, assim como a corrente que entra nos flashs.

O metanol e o *terc*-butanol, que saem no topo da coluna foram reciclados junto com as correntes que saem dos três flashs. E a alimentação do processo foi feita considerando as vazões de reciclo e as especificações do reator.

### 4.5.3 Métodos utilizados na comparação dos processos de separação

Depois de simulado, os processos de separação do processo enzimático proposto e do alcalino foram comparados. Isto foi feito, levando em conta as energias gastas nos processos. O reator não foi considerado, pois o presente trabalho não considerou a cinética da reação na simulação do processo proposto.

Para obtenção das energias do processo alcalino foi utilizado um estudo de caso do ASPEN Plus®. O fluxograma deste estudo de caso é o apresentado na Figura 10 e a descrição feita no item 3.4.

O gasto de água de resfriamento para os calores requeridos, foi calculado considerando uma diferença de temperatura de 15°C com a Equação 46, tal qual *cp* é o calor especifico da água (1 kcal/kg.°C), *m* é a massa de água em kg/h, $\Delta T$ é a diferença de temperatura de entrada e saída da água e *Q* é o calor requerido para cada processo em kcal/h.

$$Q = m * cp * \Delta T \tag{46}$$

A porcentagem de economia de energia do calor fornecido foi calculada segundo a Equação 47, tal qual, $Q_{maior}$ é o maior calor dos dois processos e $Q_{menor}$ é o menor.

$$\%\, economia = \frac{Q_{maior} - Q_{menor}}{Q_{menor}} * 100 \tag{47}$$

# 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo, serão apresentados os resultados obtidos nesta dissertação.

## 5.1 CARACTERIZAÇÃO DA MATÉRIA PRIMA

Para a produção de biodiesel, foi necessário, inicialmente, a caracterização do óleo utilizado como matéria-prima. Portanto, o mesmo foi caracterizado, por meio da determinação do índice de acidez ($IA$) e índice de saponificação ($IS$). Com estes valores determinou-se a massa molar média ($\overline{M}_{oleo}$) (dado necessários para estipular as quantidades estequiométricas da reação).

A determinação do índice de acidez foi feita pelo método do item 4.1.2 e calculado pela Equação 36, obtendo-se um resultado de 0,29805 ± 0,00053 mg KOH/g de óleo de soja utilizado, verificando que o óleo possui um baixo teor de AGL, ideal para a produção de biodiesel.

Também foi calculado o índice de saponificação do óleo de soja usado como matéria-prima pela Equação 37, sendo que o resultado do experimento foi de 191,289 ± 8,694 mg de KOH/g de óleo de soja utilizado.

Com os resultados obtidos nos experimentos de índice de acidez e índice de saponificação, foi possível calcular a massa molar média do óleo por meio da Equação 38. O resultado foi de 881,28 g/mol, sendo um dado necessário para estabelecer as quantidades de reagentes que são utilizadas nos experimentos reacionais.

## 5.2 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Após a caracterização do óleo, também foi necessária a determinação da atividade enzimática da Novozyme 435®, conforme o método descrito no item 4.2 e calculado pela Equação 39. Esse estudo foi realizado com intuito de confirmar a capacidade da enzima utilizada tem capacidade de catalisar a reação e de se verificar se os dois lotes de enzima utilizados possuíram a mesma atividade enzimática.

É importante ressaltar que a enzima Novozyme 435® foi escolhida pelo fato de ser uma das lipases comerciais mais utilizadas em processos biocatalíticos, por catalisarem a hidrólise de triacilgliceróis, de diacilglicerol, monoacilglicerol, glicerol e ácidos graxos livres (NOVOZYMES BIOENERGY, 2015).

A atividade enzimática foi de 230,05 U/g e 236,81 U/g, confirmando que a atividade enzimática dos dois lotes não mudou consideravelmente. Esta unidade representa a quantidade de enzima para produzir 1 μmol de ésteres por minuto na condição de ensaio. O fabricante, por sua vez, declara uma atividade de 8000 unidades de propil laurato por grama de enzima (PLU/g), que não foi confrontada pois se utiliza outro método de determinação.

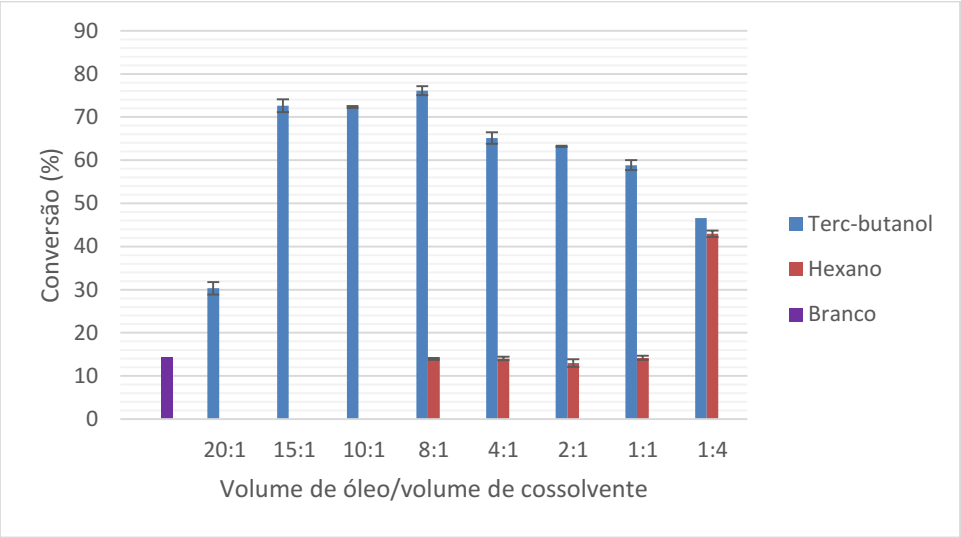
## 5.3 TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA

O primeiro ensaio de reação de transesterificação enzimática foi feito de acordo com o item 4.3.2, obtendo-se conversão em biodiesel de 14,32% ± 0,785, valor considerado muito baixo. Isto porque o metanol desestabiliza a enzima, causando inibição competitiva, ou seja, o metanol se liga na enzima sem formação de produto, o que acaba diminuindo a conversão da reação, uma vez que o metanol ocupa o sítio ativo da enzima e reduz quantidade de catalisador disponível para a transesterificação. Além disso, o metanol pode desnaturar a enzima, inativando irreversivelmente a mesma, o que, também, diminui a conversão em biodiesel, já que limita a quantidade de catalisador ativo no meio (PRICE, 2014). A fim de melhorar a conversão obtida estudou-se as influências de cossolvente e teor de água na reação.

### 5.3.1 Estudo da influência do cossolvente

Os cossolventes foram adicionados para melhorar o transporte de massa da reação e, assim, aumentar a conversão da reação. Os cossolventes testados foram o *terc*-butanol e o hexano, em diferentes volumes baseados no volume de óleo utilizado na reação. A reação foi conduzida de acordo com o item 4.3.2.1, e a conversão foi calculada utilizando as curvas de calibração de cada éster metílico, apresentadas no apêndice B, e com a Equação 42. Os resultados estão mostrados no gráfico da Figura 12, e as tabelas dos dados e dos resultados dos ensaios podem ser encontrados no apêndice C.

Figura 12 - Gráfico do efeito da quantidade de cossolvente na transesterificação




Fonte: Autora

Analisando-se os resultados, pode-se observar que, quanto maior a quantidade de hexano, maior a conversão em biodiesel, sendo que, isto acontece também no trabalho de Chen et al. (2009), os quais utilizaram a lipase de *Candida sp. 99-125*. Entretanto, Chen et al. (2009) obtiveram altas conversões em biodiesel, o que não ocorreu no presente trabalho. A conversão máxima obtida foi de 42,97% ± 0,752 em biodiesel, utilizando uma razão volumétrica de 4:1 hexano/óleo. Em quantidades menores, a conversão foi de, aproximadamente, 14%, a mesma quando não utilizado o cossolvente.

Quando o *terc*-butanol foi usado como cossolvente, as conversões cresceram com o aumento do volume de *terc*-butanol, chegando a um máximo de aproximadamente 76% em biodiesel, na razão volumétrica de 8:1 (volume de óleo/volume de cossolvente) e, depois, caindo em quantidades maiores de *terc*-butanol. Diferentemente do observado no presente trabalho, Royon et al. (2007) reportaram um aumento da conversão com maior volume de *terc*-butanol utilizando a mesma enzima, chegando a uma conversão de 96% em biodiesel, quando utilizado 32,5% em volume de *terc*-butanol em relação ao volume de óleo. A causa desta diferença pode ter sido o fato de os autores usarem uma maior razão molar, de 6:1 metanol/óleo, necessitando, assim, de uma maior quantidade de cossolvente para diminuir a concentração de metanol no meio, já que o mesmo pode provocar inibição da enzima em concentrações elevadas.

Portanto, o cossolvente escolhido para a transesterificação enzimática foi o *terc*-butanol na razão volumétrica de 8:1 volume de óleo/volume de *terc*-butanol, uma vez que a conversão em biodiesel aumentou com a utilização de cossolvente, e essa razão volumétrica foi a que

obteve a maior conversão (76,10% ± 0,240). Assim como Halim e Kamaruddin (2008) observaram, para a enzima Novozyme 435®, a adição de cossolventes hidrofílicos, como o *terc*-butanol, é melhor para a transesterificação enzimática do que solventes hidrofóbicos, como o hexano.

### 5.3.2 Estudo da influência do teor de água

Após a determinação do volume de cossolvente a ser adicionado a reação, foi estudada a influência do teor de água na conversão da reação. As reações foram conduzidas nos mesmos parâmetros da transesterificação enzimática, acrescentando ao meio reacional o cossolvente terc-butanol na proporção de 1:8 v/v óleo/*terc*-butanol. Os resultados do experimento estão demonstrados na Tabela 12, e as tabelas dos dados e resultados obtidos se encontram do apêndice D.

Tabela 12 - Resultados da influência do teor de água

| % Água | Conversão | Desvio padrão |
|---|---|---|
| 0 | 76,13 | 0,283 |
| 0,5 | 72,76 | 0,805 |
| 3 | 23,13 | 0,359 |
| 6 | 0,22 | 0,016 |

Fonte: Autora

Analisando-se os resultados, foi possível verificar que a adição de água diminui a conversão da reação. Diferentemente de outras lipases, como as lipases de *Candida sp. 99-125* de Chen et al. (2009), de *B. cepacia* de You et al. (2013) e *Hepatopancreas* utilizada em Kuepethkaew et al. (2017), nas quais o acréscimo de certa quantidade de água (10%, 7% e 3% em massa em relação à massa de óleo, respectivamente) foi necessária para uma boa conversão, a enzima Novozyme 435® não requer água na reação. Isto também foi reportado por Shimada et al. (1999), que utilizaram a lipase imobilizada de *Candida antarctica* (mistura das lipases A e B de *Candida antarctica*).

Isto acontece porque a lipase B de *Candida antarctica* não possui aumento da atividade na interface lipídeo-água, favorecendo a hidrólise do óleo e não a transesterificação. Uma vez que a reação natural das lipases é a hidrólise de triglicerói s, a conversão em biodiesel acaba diminuindo. Entretanto, observou-se que, para um teor de água de 0,5% em massa em relação

à massa de óleo, a conversão é praticamente a mesma em relação a reação conduzida em meio anidro. Optou-se por não adicionar água no meio reacional, já que o álcool utilizado foi o metanol, que não tem problemas com a água, pois não forma azeótropo com a mesma.

### 5.3.3 Estudo da influência da razão molar metanol/óleo

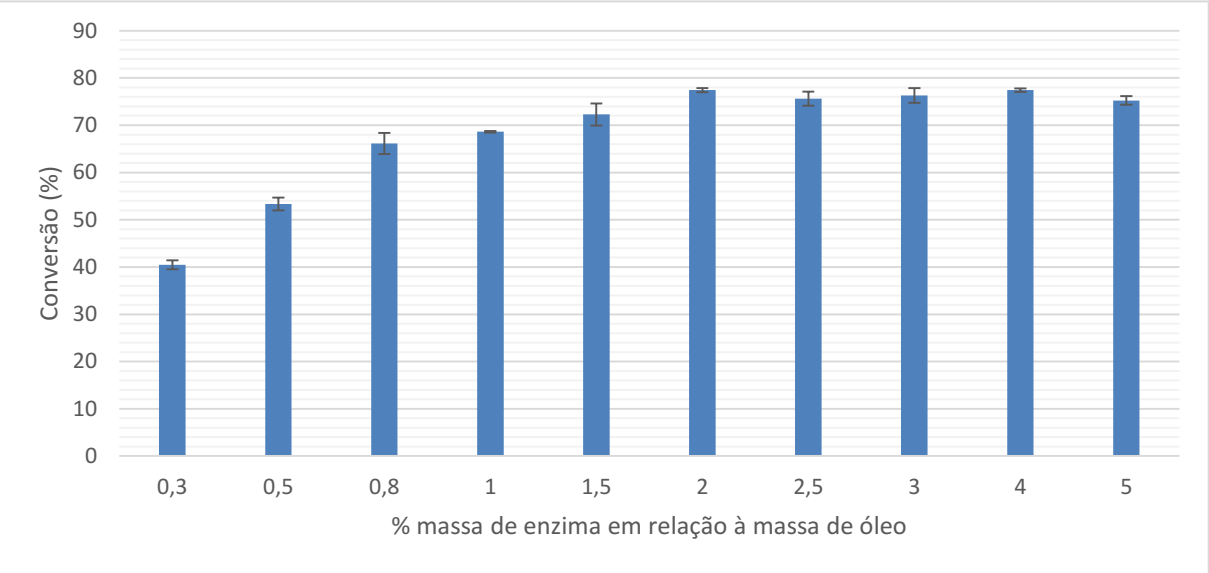
A razão molar metanol/óleo foi testado na proporção estequiométrica da reação de 3:1 metanol/óleo e comparada com razão molar de 4:1 metanol/óleo, já que outros trabalhos como Halim e Kamaruddin (2008) e Royon et al. (2007) relataram que não há aumento significativo na conversão em razões molares maiores que 4:1 metanol/óleo ao se utilizar a Novozyme 435®. Na proporção estequiométrica, a conversão foi de 66,1% ± 0,800, menor que a conversão obtida com excesso de metanol (76,1% ± 0,240), diferentemente de Wang et al. (2017), que observaram uma diminuição de 54% em biodiesel quando a razão molar aumenta de 3:1 para 4:1 metanol/óleo, com a lipase *MAS1*. Esta diferença acontece porque as enzimas utilizadas são diferentes, sendo que, possivelmente, a lipase *MAS1* é mais sensível ao metanol do que a Novozyme 435®.

Como observado nos estudos Halim e Kamaruddin (2008) e Royon et al. (2007), no presente trabalho um excesso de metanol também favoreceu a reação de transesterificação enzimática utilizando a Novozyme 435®, quando o *terc*-butanol foi adicionado como cossolvente.

### 5.3.4 Estudo da influência da quantidade de enzima

Foram testadas quantidades de catalisador utilizados na reação de transesterificação nas melhores condições dos experimentos anteriores: razão volumétrica de 8:1 volume de óleo/volume de *terc*-butanol e 0% de água. O resultado experimental está demonstrado na Figura 13, e as tabelas dos dados e resultados dos ensaios se encontram no apêndice F.

Figura 13 - Gráfico do efeito da quantidade de enzima




Fonte: Autora

Analisando-se os resultados, foi possível observar que a conversão cresce com o aumento da quantidade de enzima adicionada na reação, sendo que, depois de 2% em massa de enzima em relação à massa de óleo, a conversão estabiliza. O mesmo pode ser observado em outros trabalhos, como no de Kueperthaew et al. (2017), Halim e Kamaruddin (2013), You et al. (2013) e Wang et al. (2017), porém, com diferentes lipases. Isto acontece porque, para a quantidade de reagente adicionado, é necessária uma exata quantidade de enzima, não adiantando aumentar a quantidade de enzima sem aumentar a quantidade de reagente.

Para as lipases imobilizadas de *B. cepacia* e Novozyme 435® dos trabalhos de You et al. (2013) e Halim e Kamaruddin (2013), respectivamente, a quantidade de enzima em que ocorre a estabilização é de 10% em massa de enzima em relação à massa de óleo, aumentando apenas em 1% quando a quantidade de enzima é elevada para 14% e 15%, respectivamente. Para o presente trabalho, esta quantidade foi de 2%, obtendo conversão de 77,43% ± 0,431 em biodiesel e caindo para 72,29 ± 2,3% quando a quantidade de enzima diminui de 2 para 1,5% em massa de enzima em relação à massa de óleo. Apesar da utilização da mesma lipase no presente trabalho e em Halim e Kamaruddin (2013), a diferença na quantidade de enzima utilizada foi muito grande. A razão disso pode ser as divergências nas condições reacionais usadas, como a matéria-prima utilizada (óleo de soja e óleo de palma usado, no presente trabalho e em Halim e Kamaruddin (2013), respectivamente), e, também, a quantidade de *terc*-butanol a adicionada, que diminui a concentração de metanol no meio, prevenindo a inibição e a desnaturação da enzima e, assim, é necessária menor quantidade de enzima para uma boa

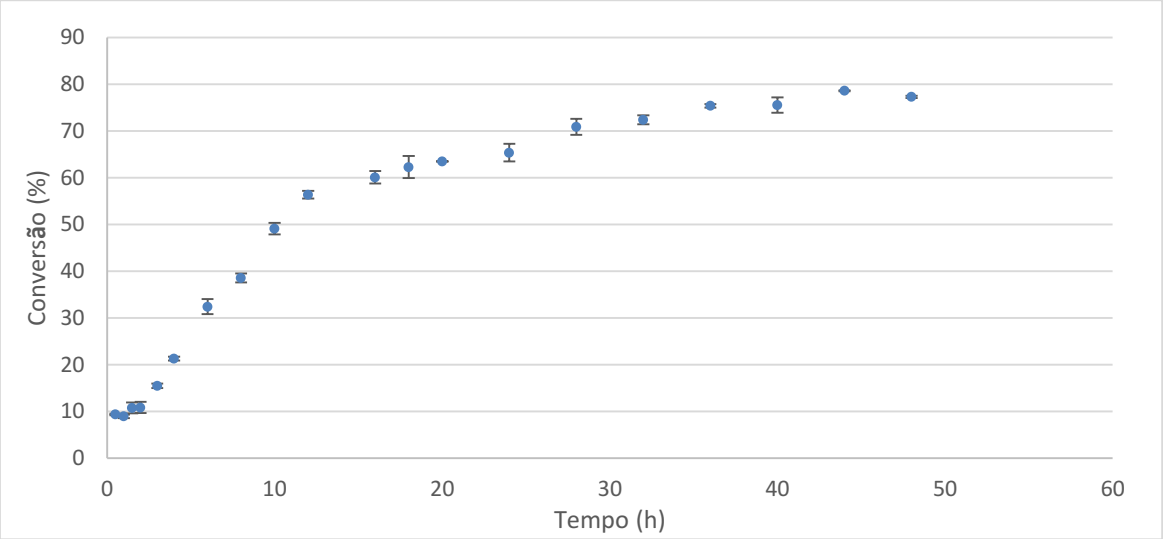
conversão.

Quando a quantidade de enzima é maior que 2%, a conversão é a mesma para todas as porcentagens, ou seja, não é necessária uma quantidade maior de enzima para esta quantidade de reagente. Portanto, a quantidade de enzima escolhida foi de 2%.

### 5.3.5 Estudo da conversão da reação ao longo do tempo

Depois da determinação da melhor condição experimental, foi feito o experimento da conversão em biodiesel ao longo do tempo, para a determinação do tempo da reação. As reações foram conduzidas a 30°C, razão molar de 4:1 metanol/óleo, 8:1 volume de óleo/volume de ter-butanol e 2% em massa de enzima em relação à massa de óleo. Os resultados obtidos estão demostrados no gráfico da Figura 14.

Figura 14 - Gráfico da conversão ao longo do tempo




Fonte: Autora

Os resultados mostram que a conversão aumenta ao longo do tempo. Entretanto, o tempo de reação foi de 44 horas, muito mais elevado do que o demostrado em outros trabalhos, como, por exemplo, em Wang et al. (2017), no qual o tempo de reação foi de 8h ao se utilizar a lipase MAS1 e, em Kueperthaew et al. (2017), de 16h utilizando a lipase de *Hepatopancreas,* obtendo conversões de 90% e 70%, respectivamente. No presente trabalho, nestes tempos de reação, as conversões foram de 38,54% ± 0,961 e 60,08% ± 1,337, respectivamente, sendo que a diferença ocorre devido à diferença das lipases utilizadas, além das diferentes condições reacionais.

A melhor conversão foi 78,61% ± 0,108 em biodiesel em 44 horas de reação, por isto este tempo de reação foi o escolhido. Porém, para escolher a melhor conversão para o processo seria necessário fazer uma análise econômica do processo, o que não é o objetivo do presente trabalho.

## 5.4 SIMULAÇÃO NO PROGRAMA ASPEN PLUS ®

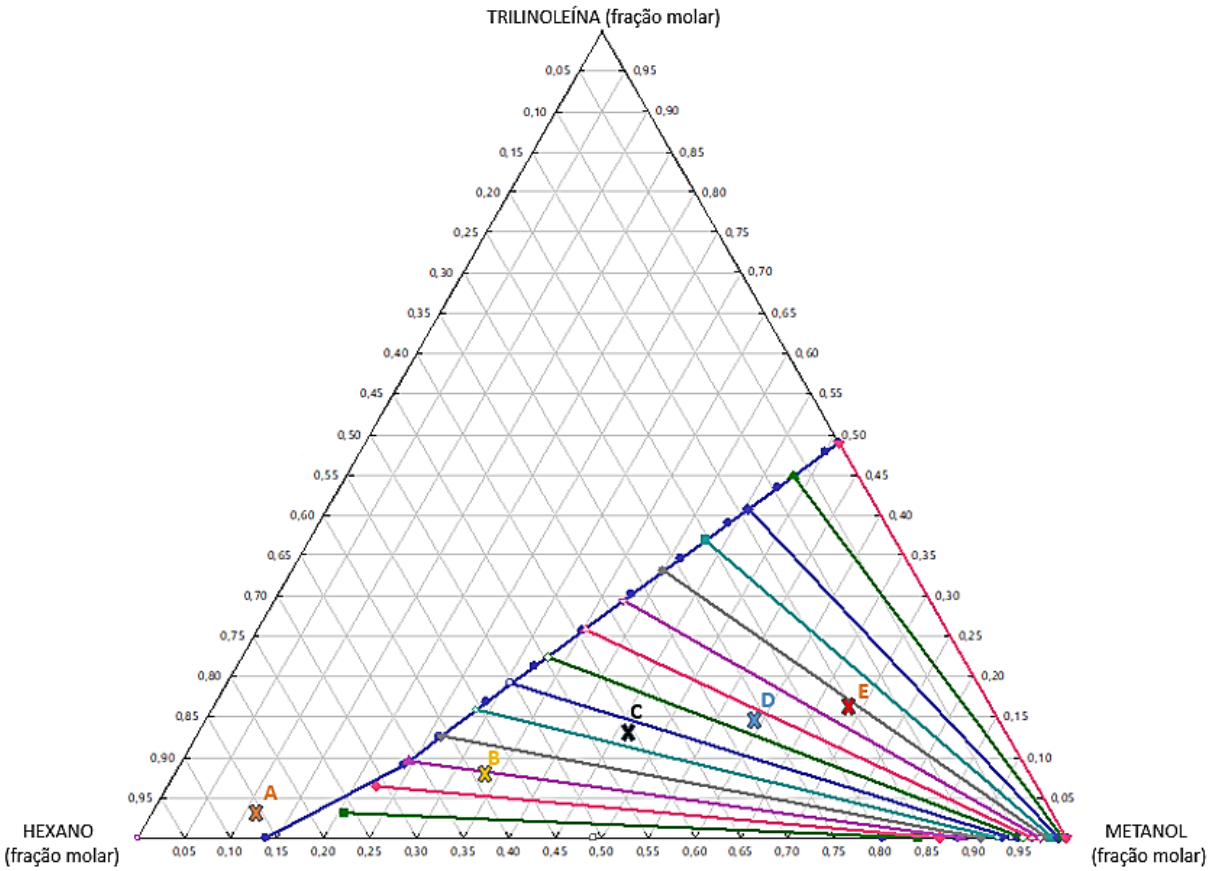
Neste item, serão demonstrados os resultados obtidos no estudo do equilíbrio de fases do sistema no programa ASPEN Plus®, bem como a proposta de processo de produção via catálise enzimática.

### 5.4.1 Estudo do equilíbrio de fases do sistema utilizando o ASPEN Plus ®

Com a simulação do equilíbrio de fases no programa ASPEN Plus®, foi possível gerar o diagrama ternário líquido-líquido, utilizando o modelo termodinâmico Unifac modificado para o sistema líquido-líquido contendo óleo, representado pela trilinoleína, metanol e cossolvente (*terc*-butanol ou hexano).

O diagrama ternário para o sistema com hexano está demonstrado na Figura 15 para a temperatura de 30°C e 1 atm, com os pontos experimentais A, B, C, D e F. No apêndice H, estão indicadas as tabelas que contém os valores utilizados para calcular os pontos que apresentam os equilíbrios das fases das condições experimentais.

Figura 15 - Diagrama ternário da mistura hexano-metanol-trilinoleína




Fonte: Autora

Um diagrama ternário apresenta duas regiões, uma monofásica e outra bifásica, divididas pela curva binodal (em azul). Os pontos acima da curva compõem a configuração monofásica do sistema, enquanto que os pontos abaixo a curva representa a configuração bifásica. Os pontos localizados sobre a curva indicam o limite entre os aspectos monofásico e bifásico do sistema, chamados de pontos de opalescência ou *plalt points*. As *tie lines* (linhas no interior da curva binodal) são usadas para indicar a composição de cada fase que estão em equilíbrio (KYLE, 1999).

É possível verificar a faixa de composições para a qual o sistema reacional se comporta como um sistema líquido bifásico. A região bifásica varia em fração molar para misturas binárias de (0; 1) a (0,5; 0,5) para o óleo e metanol, respectivamente (sem adição de hexano); de (0,13; 0,87) a (1; 0) de metanol e hexano, respectivamente (sem adição de óleo).

Pode-se observar que a formação de duas fases ocorre quando o hexano é utilizado a uma razão volumétrica de 1:1 até 8:1 (volume de óleo/volume de hexano). Uma fase que contém óleo, hexano e parte do metanol, e a outra a composição é praticamente total de metanol com

pequenas quantidades de hexano. Já quando ele é utilizado em quantidade maior, de 1:4 volume de óleo/volume de hexano, o sistema fica em uma única fase.

Na Tabela 13, são indicadas as conversões obtidas na reação de transesterificação e as concentrações de metanol (kmol/cm$^3$) na fase que contém óleo para as diferentes quantidades de hexano e que equivalem aos pontos no diagrama da Figura 15.

Tabela 13 - Resultados experimentais em diferentes volumes de hexano

| Ponto | v/v óleo/hexano | $C_{met\ (fase\ óleo)}$ (kmol/cm$^3$) | Conversão (%) | Desvio padrão |
|---|---|---|---|---|
| A | 01:04 | 0,805 | 42,968 | 0,752 |
| B | 01:01 | 1,215 | 14,207 | 0,471 |
| C | 02:01 | 1,135 | 12,991 | 0,917 |
| D | 04:01 | 1,072 | 14,058 | 0,414 |
| E | 08:01 | 1,035 | 13,958 | 0,215 |

Fonte: Autora

Pode-se observar na Tabela 13, que a concentração de metanol no sistema utilizando hexano como cossolvente diminui com a redução de hexano, ou seja, quanto maior a quantidade de hexano, mais metanol na fase óleo. Portanto, quando o sistema possui grande quantidade de hexano, o mesmo tende a ter uma única fase. Isto ocorre quando a razão volumétrica de óleo/hexano é igual a 1:4 (ponto A no diagrama ternário – Figura 15), neste ponto a concentração de metanol na fase que contém óleo é mais baixa, já que o sistema fica em uma única fase. Em menores quantidades de hexano, o sistema fica com duas fases, sendo que a maior quantidade de metanol fica na fase que não contém óleo.

Ao se analisar os valores obtidos das conversões em ésteres metílicos (biodiesel), apresentados na Tabela 13, para diferentes proporções volumétricas óleo/cossolventes, verifica-se que, ao se usar hexano como cossolvente, para proporções volumétricas óleo/hexano, em que esta substância está em menor quantidade (equivalente às razoes volumétricas 8:1, 4:1, 2:1 e 1:1), as conversões são baixas, aproximadamente iguais a 14%. Todos estes pontos estão na região bifásica, como pode ser observado no diagrama terciário da Figura 15, e apresentam alta % molar de metanol na fase que contém óleo. Supõe-se que a alta concentração de metanol na fase óleo, inibe e desnatura a enzima, diminuindo a conversão.

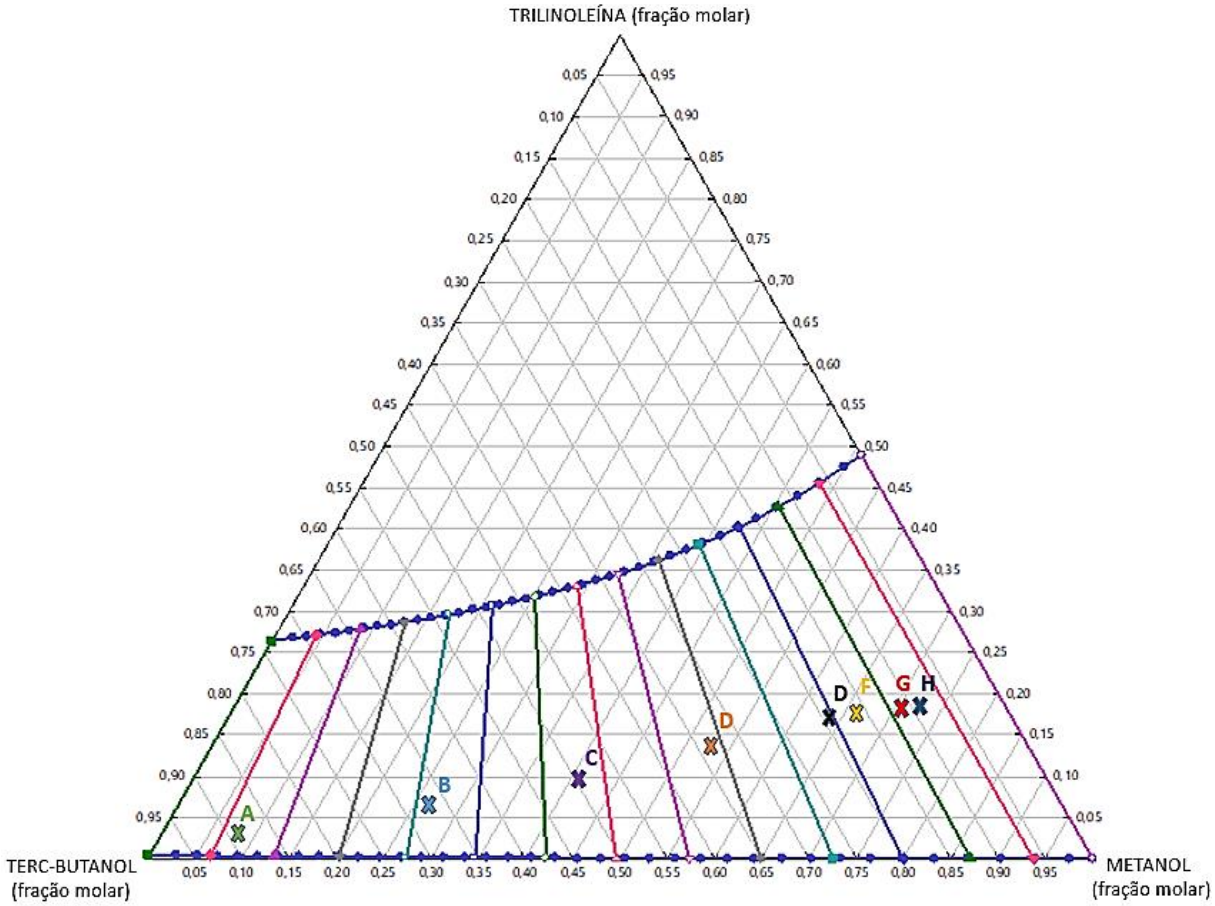
Observa-se ainda que para uma quantidade maior de hexano no meio reacional, na proporção volumétrica de 1:4 (óleo/cossolvente), a conversão obtida foi de aproximadamente 43%. Esta conversão foi alcançada ao se ter um sistema homogêneo, em que, pela presença do cossolvente, minimizou-se o problema da transferência de massa. Este aumento pode ser

considerado razoável em comparação aos valores anteriormente obtidos, mas ainda é insatisfatório para este tipo de reação, na qual se busca altas conversões. A baixa conversão ocorre, possivelmente, devido à dispersão dos reagentes no meio reacional, o que dificulta interação entre os mesmos, e, assim, diminui a conversão.

Supõe-se que o hexano pode ser um cossolvente a ser utilizado no meio reacional para obtenção de biodiesel, mas se faz necessário determinar a melhor razão volumétrica óleo/hexano de forma a proporcionar boas condições de contato entre reagentes, porém sem altas diluições.

A Figura 16 ilustra o diagrama ternário para o *terc*-butanol, trilinoleína e metanol a 1 atm e 30°C, com os pontos A, B, C, D, E, F, G e H mostrando as proporções experimentais utilizados.

Figura 16 - Diagrama ternário para a mistura *terc*-butanol-metanol-trilinoleína




Fonte: Autora

Pode-se observar que região bifásica do sistema metanol, *terc*-butanol e trilinoleína é maior do que a do sistema com hexano. Variando em fração molar para misturas binárias de (0;

1) a, aproximadamente, (0,5; 0,5) para a trilinoleína e o metanol, respectivamente (sem adição de *terc*-butanol); de (0,74; 0,26) a (1; 0) de *terc*-butanol e trilinoleína, respectivamente (sem adição de metanol) e de aproximadamente (0,99; 0,01) de *terc*-butanol e trilinoleína, respectivamente.

Quando o *terc*-butanol é utilizado como cossolvente a uma razão volumétrica de 1:4 até 20:1 (volume de óleo/volume de *terc*-butanol) ocorre a formação de duas fases. A fase com praticamente todo o óleo e parte do *terc*-butanol e metanol, e a fase com o a maior parte de metanol e de *terc*-butanol. O diagrama ternário da Figura 16 mostra que quanto menor a quantidade de *terc*-butanol, maior a quantidade de metanol na fase que contém óleo.

Na Tabela 14, são indicadas as conversões obtidas na reação de transesterificação e as concentrações de metanol (kmol/cm$^3$) na fase que contém óleo para as diferentes quantidades de *terc*-butanol e que equivalem aos pontos no diagrama da Figura 16.

Tabela 14 - Resultados experimentais em diferentes volumes de *terc*-butanol

| Ponto | v/v óleo/*terc*-butanol | $C_{met\ (fase\ óleo)}$ (kmol/cm$^3$) | Conversão (%) | Desvio padrão |
|---|---|---|---|---|
| A | 01:04 | 0,195 | 46,576 | 1,166 |
| B | 01:01 | 0,543 | 58,856 | 0,134 |
| C | 02:01 | 0,757 | 63,223 | 1,334 |
| D | 04:01 | 0,908 | 65,136 | 1,027 |
| E | 08:01 | 0,977 | 74,349 | 0,239 |
| F | 10:01 | 0,987 | 72,345 | 1,455 |
| G | 15:01 | 0,996 | 72,625 | 1,455 |
| H | 20:01 | 0,998 | 30,334 | 0,509 |

Fonte: Autora

A concentração de metanol na fase que contém óleo para o sistema utilizando *terc*-butanol aumenta com a diminuição do volume de *terc*-butanol adicionado, também, como visto anteriormente, quanto menor a quantidade de *terc*-butanol, mais metanol na fase que contém óleo.

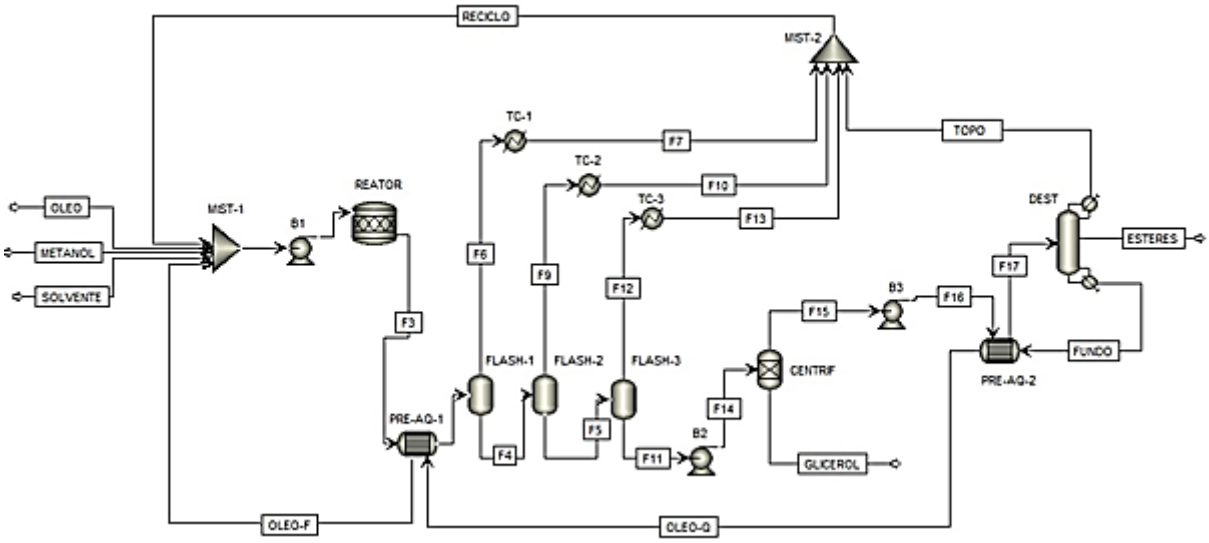
Ao se utilizar o *terc*-butanol como cossolvente, verifica-se que o sistema permanece sempre em duas fases para todas as proporções utilizadas. Pode-se observar que a conversão da reação aumenta com a diminuição do volume do *terc*-butanol adicionado ao meio reacional de uma razão volumétrica de 1:4 óleo/ *terc*-butanol até 8:1 (ponto A e E - Figura 16, respectivamente), aumentando a concentração de metanol na fase que contém óleo de 0,195 kmol/cm$^3$ para 0,977. O aumento da concentração de metanol no meio propicia o contato entre

o mesmo e o óleo, aumentando a conversão da reação. Entretanto, acima desta proporção (10:1, 15:1 e 20:1), observa-se um aumento da concentração de metanol na fase que contém óleo (0,987; 0,996 e 0,998 kmol/cm$^3$, respectivamente), e, consequentemente, uma diminuição da conversão, pois o sistema se comporta como se não houvesse cossolvente para facilitar a transferência de massa. Assim como ocorre com o uso de hexano como cossolvente, possivelmente, altas concentrações de metanol inibem e desnaturam a enzima, diminuindo a conversão da reação.

### 5.4.2 Proposta de processo de produção via catálise enzimática

O processo proposto para a produção de biodiesel via catálise enzimática tem início na alimentação dos reagentes metanol e óleo de soja, representado por uma mistura de 55, 30 e 15% em massa de trilinoleína, trioleína e tripalmitina, respectivamente, e do cossolvente *terc*-butanol, como mostra a Figura 17.

Figura 17 - Fluxograma proposto para a produção de biodiesel via catálise enzimática




Fonte: Autora

A alimentação do reator (REATOR – Figura 17) foi feita a uma razão molar de 4:1 metanol/óleo e uma razão volumétrica de 8:1 volume de óleo/volume de *terc*-butanol. O reator utilizado foi o reator de conversão (RSTOIC) operando a 30°C e 1 bar com as conversões de 42%, 24% e 10%, baseadas nos experimentos, para a trilinoína, trioleína e tripalmitina,

respectivamente. Os fluxos mássicos de entrada e saída do reator, assim como as correntes de alimentação nova, estão demostrados na Tabela 15.

Tabela 15 - Fluxos mássicos de alimentação nova e entrada e saída do reator

| | Alimentação nova (kg/h) | | | Reator (kg/h) | |
|---|---|---|---|---|---|
| Substância | ÓLEO | METANOL | SOLVENTE | $F2_{ENTRADA}$ | $F3_{SAIDA}$ |
| Metanol | 0,349 | 0,000 | 0,000 | 1,474 | 1,125 |
| *Terc*-butanol | 0,000 | 0,000 | 7,87E-05 | 1,058 | 1,058 |
| Trilinoleína | 0,000 | 2,310 | 0,000 | 5,500 | 3,190 |
| Trioleina | 0,000 | 0,720 | 0,000 | 3,000 | 2,280 |
| Tripalmitina | 0,000 | 0,150 | 0,000 | 1,500 | 1,350 |
| Linoleato de metila | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 2,321 |
| Oleato de metila | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,723 |
| Palmitato de metila | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,151 |
| Glicerina | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,334 |

Fonte: Autora

A corrente de saída do reator (corrente F3 – Figura 17) passa por pré-aquecimento (PRE-AQ-1 – Figura 17) até uma temperatura de 85°C e, em seguida, passa por evaporador triplo efeito (FLASH 1, 2 e 3 – Figura 17) para a retirada do metanol e do *terc*-butanol. O primeiro flash (FLASH 1 – Figura 18) trabalha a uma temperatura de 85°C e pressão de 1 bar, retirando 77,4% em massa de metanol e 62% de *terc*-butanol. O segundo flash (FLASH 2 – Figura 17) opera a 80°C e 0,69 bar, retirando 32,4% de metanol e 18,3% de *terc*-butanol que entram no equipamento. A temperatura do terceiro flash (FLASH 3 – Figura 17) é de 68°C e a pressão de 0,065 bar, sendo que este equipamento retira 92,2% e 84,1% de metanol e *terc*-butanol, respectivamente, das correntes de entrada do mesmo, como mostram as correntes demostradas na Tabela 16.

Tabela 16 - Fluxos mássicos das correntes de entrada, saída e topo dos flashs 1, 2 e 3

| | Flash 1 (kg/h) | | Flash 2 (kg/h) | | Flash 3 (kg/h) | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | $F4_{ENTRADA}$ | $F6_{TOPO}$ | $F5_{ENTRADA}$ | $F9_{TOPO}$ | $F8_{ENTRADA}$ | $F12_{TOPO}$ | $F11_{SAIDA}$ |
| Metanol | 1,1254 | 0,8710 | 0,2545 | 0,0826 | 0,1719 | 0,1586 | 0,0133 |
| *Terc*-butanol | 1,0576 | 0,6557 | 0,4019 | 0,0735 | 0,3284 | 0,2763 | 0,0520 |
| Trilinoleína | 3,1900 | 0,0000 | 3,1900 | 0,0000 | 3,1900 | 0,0000 | 3,1900 |
| Trioleína | 2,2800 | 0,0000 | 2,2800 | 0,0000 | 2,2800 | 0,0000 | 2,2800 |
| Tripalmitina | 1,3500 | 0,0000 | 1,3500 | 0,0000 | 1,3500 | 0,0000 | 1,3500 |
| Linoleato de metila | 2,3208 | 0,0000 | 2,3208 | 0,0000 | 2,3208 | 0,0000 | 2,3207 |
| Oleato de metila | 0,7233 | 0,0000 | 0,7233 | 0,0000 | 0,7233 | 0,0000 | 0,7233 |
| Palmitato de metila | 0,1510 | 0,0000 | 0,1510 | 0,0000 | 0,1510 | 0,0000 | 0,1509 |
| Glicerina | 0,3343 | 0,0001 | 0,3342 | 0,0000 | 0,3342 | 0,0002 | 0,3339 |

Fonte: Autora

É retirado um total de 98,8% de metanol e 95,1% de *terc*-butanol, os quais, depois, passam por trocadores de calor a 45°C e 1 bar, onde são condensados. Os gastos energéticos dos condensadores estão demostrados na Tabela 17.

Tabela 17 - Calores requeridos nos trocadores de calor

| Trocador de calor | Calor requerido (kcal/h) |
|---|---|
| TC-1 | 1,468 |
| TC-2 | 0,146 |
| TC-3 | 0,363 |

Fonte: Autora

Depois de condensados, o metanol e o terc-butanol (correntes F5, F9 e F12 – Figura 17), são reciclados ao processo.

A outra corrente que sai do terceiro flash (corrente F14 – Figura 17) passa por uma centrifuga (CENTRIF – Figura 17) para a remoção da glicerina (corrente GLICEROL – Figura 18) do processo, que contém gasto energético de 22,763 kcal/h.

A corrente (corrente F16 – Figura 17) é pré-aquecida (PRE-AQ-2 – Figura 17) até uma 7temperatura de 224,8°C para a entrada na coluna de destilação (DEST – Figura 17), onde são separados o óleo que não reagiu (corrente FUNDO – Figura 17), o restante de metanol e *terc*-butanol (corrente TOPO – Figura 17) e o biodiesel (corrente BIODIESEL – Figura 17). Os fluxos mássicos das correntes de alimentação, topo, fundo e biodiesel da coluna estão demostrados na Tabela 18. O óleo, o metanol e o *terc*-butanol, separados nesta etapa, são reciclados para o processo.

Tabela 18 - Fluxos mássicos de entrada e saída da coluna de destilação

| | Coluna de destilação (kg/h) | | | |
|---|---|---|---|---|
| | $F17_{ENTRADA}$ | FUNDO | ESTERES | TOPO |
| Metanol | 0,0133 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0133 |
| *Terc*-butanol | 0,0520 | 0,0000 | 0,0001 | 0,0520 |
| Trilinoleína | 3,1900 | 3,1900 | 0,0000 | 0,0000 |
| Trioleina | 2,2800 | 2,2800 | 0,0000 | 0,0000 |
| Tripalmitina | 1,3500 | 1,3500 | 0,0000 | 0,0000 |
| Linoleato de metila | 2,3207 | 0,0000 | 2,3206 | 0,0001 |
| Oleato de metila | 0,7233 | 0,0000 | 0,7233 | 0,0000 |
| Palmitato de metila | 0,1509 | 0,0000 | 0,1507 | 0,0002 |
| Glicerina | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |

Fonte: Autora

A coluna de destilação possui 11 estágios e opera a 0,06 bar. Sua alimentação é feita no quarto prato e a retirada de biodiesel é feita no oitavo prato. As especificações do condensador e refervedor da coluna estão demostrados na Tabela 19.

Tabela 19 - Especificações e calores da coluna de destilação

| Coluna de destilação | | |
|---|---|---|
| Condensador: | | |
| | Temperatura | 103,3°C |
| | Razão de refluxo | 12 |
| | Calor | (527,86) Kcal/h |
| Refervedor: | | |
| | Temperatura | 456,7°C |
| | Razão de refluxo | 4,62 |
| | Calor | 1506,1 kcal/h |

Fonte: Autora

Para economizar energia, os dois pré-aquecedores são aquecidos pelo óleo quente que sai do fundo da coluna de destilação (corrente FUNDO – Figura 17) a uma temperatura de 446,6°C.

### 5.4.3 Descrição dos gastos energéticos do processo via catálise alcalina

A descrição dos gastos energéticos do processo de produção de biodiesel via catálise alcalina foram feitos segundo um estudo de caso do programa ASPEN Plus®. O fluxograma do processo está demonstrado na Figura 10 no item 3.4.

No processo alcalino, a corrente de óleo que entra no reator passa por pré-aquecimento até uma temperatura de 60°C, com calor de 17,94 kcal/kg de biodiesel produzido. No reator, a reação acontece a 60°C e a 4 bar, e seu gasto energético de 12,21 kcal/kg de biodiesel produzido.

Depois da reação, o metanol é recuperado, a fim de ser reciclado ao processo, em uma coluna de 7 estágios, com alimentação no quarto prato. As especificações e o gasto energético por quilo de biodiesel produzido da coluna (COLUNA 1 – Figura 10) estão descritas na Tabela 20.

Tabela 20 - Especificações e calores da coluna de metanol

| Coluna de metanol (COLUNA 1) | | |
|---|---|---|
| Condensador: | | |
| | Temperatura | 28,8°C |
| | Razão de refluxo | 2 |
| | Calor | (99,81) Kcal/kg |
| Refervedor: | | |
| | Temperatura | 59°C |
| | Razão de refluxo | 1,19 |
| | Calor | 98,48 kcal/kg |

Fonte: Autora

A outra corrente que sai da coluna de recuperação de metanol passa por um trocador de calor onde é resfriada até 60°C, o gasto energético desta etapa de 8 kcal/kg de biodiesel produzido. Depois, a corrente é lavada com água para a retirada do catalisador em uma coluna de extração com 6 estágios, separando a corrente de biodiesel e de glicerina. A corrente de biodiesel passa por uma coluna de destilação de 6 estágios que opera a 0,1 bar, para a retirada da água de lavagem e do metanol residual absorvidos pelo biodiesel. As especificações e o gasto energético por quilo de biodiesel produzido da coluna (COLUNA 2 – Figura 10) estão demostrados na Tabela 21.

Tabela 21 - Especificações e calores da coluna de biodiesel

| Coluna de Biodiesel (COLUNA 2) | | |
|---|---|---|
| Condensador: | | |
| | Temperatura | 148,3°C |
| | Razão de refluxo | 0,95 |
| | Calor | (278,78) Kcal/kg |
| Refervedor: | | |
| | Temperatura | 338°C |
| | Razão de refluxo | 127,5 |
| | Calor | 305,2 kcal/kg |

Fonte: Autora

A corrente de glicerina passa por um neutralizador a 50°C e 1,1 bar, em um processo que o catalisador é neutralizado com ácido fosfórico. O gasto energético do neutralizador é de 15,94 kcal/kg de biodiesel produzido. Depois, a corrente passa por um filtro, com gasto de 0,01 kcal/kg de biodiesel produzido, para retirar o sal formado no processo de neutralização.

A corrente de glicerina, então, passa por uma coluna de destilação de 6 estágios para extrair a água de lavagem e o metanol residual absorvidos pela mesma. Na Tabela 22, estão demonstradas as especificações da coluna, assim como os gastos energéticos por quilo de produto produzido do condensador e refervedor da mesma.

Tabela 22 - Especificações e calores da coluna de glicerina

| Coluna de Glicerina (COLUNA 3) | | |
|---|---|---|
| Condensador: | | |
| | Temperatura | 70,94°C |
| | Razão de refluxo | 2 |
| | Calor | (213,5) Kcal/kg |
| Refervedor: | | |
| | Temperatura | 262,2°C |
| | Razão de refluxo | 11,85 |
| | Calor | 232,03 kcal/kg |

Fonte: Autora

### 5.4.4 Comparação entre os processos de separação das rotas alcalina e enzimática

Para comparar os consumos energéticos dos processos via catálise alcalina e via catálise enzimática, foi calculado o gasto energético de cada etapa dos processos por quilo de produto produzido (corrente BIODIESEL – Figura 10 do processo alcalino e corrente ESTERES – Figura 17 do processo enzimático), como mostrados na Tabela 23.

Tabela 23 - Comparação do gasto energético entre os processos alcalino e enzimático

| Processo alcalino | | Processo enzimático | |
|---|---|---|---|
| Coluna de metanol (COLUNA 1) | (99,815)<br>96,479 | Trocador de calor 1 (TC 1) | (0,460) |
| Trocador de calor (TC2) | (0,079) | Trocador de calor 2 (TC 2) | (0,046) |
| Coluna de biodiesel (COLUNA 2) | (248,779)<br>305,201 | Trocador de calor 3 (TC 3) | (0,113) |
| Neutralizador (NEUT) | (15,940) | Coluna de destilação (DEST) | (165,231)<br>471,437 |
| Filtro (FILT) | 0,011 | Separação da glicerina (CENT) | (7,125) |
| Coluna de glicerina (COLUNA 3) | (213,506)<br>232,030 | | |
| Soma | 633,721<br>(578,119) | Soma | 471,437<br>(172,975) |

Fonte: Autora

A rota alcalina tem gasto de 578,1 kcal/kg de produto produzido, consumindo cerca de 38,4 kg/h.kg de produto produzido de água de resfriamento. Já na rota enzimática, o gasto é de 172,98 kcal/kg de produto produzido, gastando 11,5 kg/kg de produto produzido de água de resfriamento, economizando 27kg/kg de produto produzido de água de resfriamento, ou seja, 233,9% de economia de energia.

O calor fornecido ao processo alcalino é de 633,7 kcal/kg de produto produzido e de 471,44 kcal/kg de produto produzido ao processo enzimático, economizando cerca de 34,4% em energia.

Além da economia de energia e de água de resfriamento, no processo enzimático não há necessidade da etapa de lavagem do biodiesel, que é um dos grandes problemas na produção de biodiesel via catálise alcalina, processo mais utilizado atualmente. O gasto de água é de, no mínimo, 3 litros de água para cada litro de biodiesel produzido (BRITO et al., 2012). Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustível (ANP, 2017), no Brasil, a produção de biodiesel no ano de 2017, foi de 4,3 milhões de metros cúbicos, ou seja, o gasto de água mínimo foi de 12,8 milhões de metros cúbicos.

Outro problema da utilização de água de lavagem, é que o biodiesel a absorve, sendo necessário a separação da mesma em uma coluna de destilação, já que o biodiesel não pode ser comercializado com mais de 200 ppm de (ANP, 2014).

Quando comparado ao processo básico, o processo enzimático apresenta etapas de separação e purificação mais simples, com menores gastos energéticos e menor necessidade de água de resfriamento. Além disso, não é preciso utilizar água de lavagem para a purificação do biodiesel e nem fazer uso de outras substâncias. Além disso, o processo enzimático produz biodiesel e glicerol anidros. Como desvantagens, o processo enzimático apresenta alto custo da enzima e tempo reacional elevado.

# 6 CONCLUSÃO

O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento da produção de biodiesel via catálise enzimática do óleo de soja e metanol utilizando a Novozyme 435®. A transesterificação enzimática obteve conversão em biodiesel de aproximadamente 15%, valor considerado muito baixo e justificado pela baixa solubilidade dos reagentes que dificulta o transporte de massa, o que é ainda piorado pelo uso da enzima imobilizada como catalisador.

A fim de melhorar o transporte de massa, utilizou-se cossolvente na reação. A simulação mostrou que o sistema pode ter uma fase quando o hexano é utilizado em uma razão volumétrica de 1:4 volume de óleo/volume de hexano. Apesar disso, a conversão máxima obtida foi de 43% em biodiesel nesta razão volumétrica, isto porque a quantidade de hexano no meio é alta causando o efeito da diluição dos reagentes. Já quando o cossolvente foi o *terc*-butanol, obteve-se conversão de aproximadamente 76% em biodiesel a uma razão volumétrica de 8:1 (volume de óleo/volume de *terc*-butanol). Ao contrário do hexano, a simulação mostrou que, apesar do sistema permanecer em duas fases com a utilização do *terc*-butanol nas condições testadas, quanto menor a quantidade de *terc*-butanol, mais metanol fica na fase óleo, facilitando o contato dos reagentes. Entretanto, em quantidades mais baixa que 8:1 volume de óleo/volume de *terc*-butanol, a conversão em biodiesel diminui, provavelmente, porque a concentração de metanol na fase que contém óleo aumenta, causando inibição da enzima.

Apesar do metanol ter efeito inibidor e desnaturante para a enzima um excesso do mesmo no meio favorece a reação. Experimentos mostraram que quando utilizado o metanol na razão molar estequiométrica de 3:1 metanol/óleo a conversão foi de 66%, e quando utilizado com excesso em uma razão molar de 4:1 metanol/óleo a conversão foi de 76% em biodiesel.

O teor de água a ser adicionado na reação também foi testada e verificou-se que, quanto mais água adicionada na reação, menor a conversão em biodiesel.

Em quantidades de 5 a 2% em massa de enzima em relação à massa de óleo não há diferença nas conversões obtidas, ou seja, acima de 2% a quantidade de reagentes é muito pequena para a quantidade de enzima. Depois, a conversão vai diminuindo com a redução da quantidade de enzima, portanto a quantidade de enzima escolhida foi de 2% em massa em relação a massa de óleo.

Conclui-se, portanto, que a condição experimental ótima da transesterificação enzimática utilizando a Novozyme 435® a 30°C é de razão molar de 4:1 metanol/óleo, 1:8 em volume de *terc*-butanol/volume de óleo, 0% em massa de água em relação à massa de óleo e

2% em massa de catalisador em relação à massa de óleo, obtendo-se conversão de 77,7% em biodiesel em 44 horas de reação.

O processo proposto para a transesterificação enzimática possui processos de separação e purificação mais simples comparado ao processo alcalino, com redução de 34,4% do consumo de energia fornecida e 233,9% de economia de energia requerida, com redução de 27kg/h no consumo de água de resfriamento. Além disso, a produção via catálise enzimática não requer a utilização de água de lavagem na purificação do biodiesel, já que a enzima não contamina o produto final, poupando grande quantidade de água de lavagem e produzindo biodiesel anidro. A rota enzimática, também, não necessita da etapa de neutralização com ácido da glicerina e produz uma glicerina de maior qualidade.

# REFERÊNCIAS


ANDERSON, E. M.; LARSSON, K. M.; KIRK, O. One biocatalyst – Many applications: the use of *Candida Antartica* B-Lipase in organic synthesis. **Biocatalysis and biotransformation**, v. 16, p. 181-204, 1997. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/10242429809003198> Acesso em 19 jan. 2018.

ANP. **Resolução ANP N° XX, DE XX.X.2014 – DOU XX.XX.2014**. 2014. Disponível em: <www.anp.gov.br/SITE/acao/download/?id=70934> Acesso em 17 jan. 2018.

ANP. Informações de mercado. Publicado: 25 abril 2017. Atualizado: 28 set. 2017. **Evolução mensal da produção e da capacidade nominal autorizada pela ANP no país em 2017**. 2017. Disponível em: http://www.anp.gov.br/wwwanp/producao-de-biocombustiveis/biodiesel/informacoes-de-mercado> Acesso em 17 jan. 2018.

AL-ZUHAIR, S.; LING, F. W.; JUN, L. S. Proposed Kinetic mechanism of the production of biodiesel from palm oil using lipase. **Process Biochemistry**, v.42, p. 951-960, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2007.03.002> Acesso em 4 dez. 2017.

ASPEN TECHNOLOGY. **Aspen Plus: Aspen Plus Biodiesel Model**, 2012. Software

AOCS. **Official methods recommended practices of the American oil chemist's society**: method ca 5a-40: free fatty acids, 5 ed. Illinois: American Oil Chemist's Society, 1998a.

AOCS. **Official methods recommended practices of the American oil chemist's society:** method ca 3b-76: free fatty acids, 5 ed. Illinois: American Oil Chemist's Society, 1998b.

AVHAD, M. R.; MARCHETTI, J. M. A review on recent advancement in catalytic materials for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 50, p. 696-718, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.038> Acesso 20 nov. 2017.

BABAKI, M. et al. Process optimization for biodiesel production from waste cooking oil using multi-enzyme systems through response surface methodology. **Renewable Energy**, v. 105, p. 465-472, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.12.086> Acesso em 22 dez. 2017.

BRITO, J. F. et. al. Tratamento da água de purificação do biodiesel utilizando eletrofloculação. **Química nova**, v. 35, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422012000400014> Acesso 20 fev. 2018.

CASTRO, H. F., et al. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, p. 146-156, 2004. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-40422004000100025> Acesso 23 dez. 2017.

CASTRO, H. F., et al. Imobilização de enzimas e sua estabilidade. IN: BOM, E. et al. [ed.]. **Enzimas em biotecnologia**: Produção, aplicação e Mercado. Editora Interciência Ltda., Rio de Janeiro, RJ, 2008.

CHEIRSILP, B.; H-KITTIKUM, A.; LIMKATANYU, S. Impact of transesterification on the kinetic modeling of biodiesel production by immobilized lipase. **Biochemical Engineering Journal**. v. 42, p. 261-269, 2008. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.bej.2008.07.006> Acesso 23 dez. 2017.

CHEN, W. W.; NIEPEL, M.; SORGER, P. K .Classic and contemporany approaches to modeling biochemical reactions. **Genes Development**
, v. 24, n. 17, p.1861-1875, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2932968/> Acesso 4 fev. 2018.

CROCKER, M. **Thermochemical conversion of biomass to liquid fuels and chemicals**. 1. ed. Cambridge: Royal Society oh Chemistry, 2010.

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: visão crítica e perspectivas na academia e na indústria. **Química Nova**, v.32, p.776-792, 2009. Disponível em: <http://submission.quimicanova.sbq.org.br/qn/qnol/2009/vol32n3/20-QN09125.pdf> Acesso 23 out. 2017.

DU, W. et al. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 30, p. 125-129, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2004.04.004>. Acesso 15 nov. 2017.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética, **Balanço Energético Nacional 2017**: Ano base 2016: Relatório Síntese. Rio de Janeiro: EPE, 2017. Disponível em: <https://ben.epe.gov.br/downloads/Síntese%20do%20Relatório%20Final_2017_Web.pdf> Acesso 1 dez. 2017.

FREIRE, D. M. G.; CASTILHO, L. R. Lipases em biocatálise. IN: BOM, E. et al. [ed.]. **Enzimas em biotecnologia**: Produção, aplicação e Mercado. Editora Interciência Ltda., Rio de Janeiro, RJ, 2008.

GMEHLING, J. et al. A modified UNIFAC (Dortmund) model. 3. Revision and extension. **Ind. Eng. Chem. Res.,** v. 37, p. 4876-4882, 1998. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ie980347z> . Acesso 17 fev. 2018.

GOVERNO DO BRASIL. Percentual obrigatório de biodiesel no óleo diesel passa para 8%, **Governo do Brasil**, Economia e Emprego, 2017. Disponível em: <http://www.brasil.gov.br/economia-e-emprego/2017/03/percentual-obrigatorio-de-biodiesel-no-oleo-diesel-passa-para-8> Acesso 17 nov. 2017.

GUO, M.; SONG, W.; BUHAIN, J. Bioenergy and biofuels: History, status and perspective. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.42, p. 712-725, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.10.013> Acesso 6 jan. 2018.

HALIM, S. F. A.; KAMARUDDIN, A. H. Catalytic studies on FAME production from waste cooking palm oil in a *tert*-butanol system. **Process Biochemistry**, v. 43, p. 1436-1439, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2008.08.010> Acesso 17 nov. 2017.

HERNÁNDAZ-MARTIN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozyme 435 and Lipozyme® TL IM. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 277-286, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2006.12.024> Acesso 11 out. 2017.

HENRI, V. **Lois générales de l'action des diástases.** [S.l.]: Librairie Scientifique A. Hermann, 1903. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?id=Wcs9AAAAYAAJ&redir_esc=y> Acesso em 4 fev. 2018.

KHOR, G. K. et al. Thermodynamics and inhibition studies of lipozyme TL IM in biodiesel production via enzymatic transesterification. **Bioresource Technology**, v. 101, p.6558-6561, 2010.

KNOTHE, G.; et al. **Manual de biodiesel**. 1. ed. São Paulo: Editora Blucher, 2006.

KOHLHLEPP, G. Análise da situação da produção de etanol e biodiesel no Brasil. **Estudos avançados**, v. 24, n. 68. São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142010000100017> Acesso 8 nov. 2017.

KUEPETHKAEW, S.; SANGKHARAK, K.; BENJAKUL, S.; KLOMKLAO, S. Optimized synthesis of biodiesel using lipase from Pacific White shrimp (Litopenaeus vannamei) hepatopancreas. **Renewable Energy**, v.104, p. 139-147, 2017. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096014811631062X> Acesso 22 nov. 2017.

KYLE, B. G. **Chemical and process thermodynamics**. 3. ed. Prentice Hall PTR. Nova Jersey, EUA. 1999.

LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 500-518, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.03.002> Acesso 10 out. 2017.

LEITE, R. C. C.; LEAL, M. L. L. V. O biocombustível do Brasil. **Cebrap**, v.78. São Paulo, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-33002007000200003> Acesso 08 nov. 2017.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, vol. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009. Disponível em: <http://www.repositorio.ufba.br/ri/handle/ri/3796> Acesso 19 abril 2018.

MAGALHÃES, S. P. **Estudo do modelo cinético para a reação de transesterificação enzimática de óleos vegetais**. 2010. Dissertação de Mestrado em Tecnologia de Processo Químicos e Bioquímicos – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, 2010. Disponível em: <http://186.202.79.107/download/transesterificacao-enzimatica-de-oleos-vegetais.pdf> Acesso 13 fev. 2018.

MICHAELIS, L.; MENTEN, M. L.; JOHNSON, K. A.; GOODY, R. S. The original Michaelis constant: translation of the 1913 Michaelis-Menten paper. **Biochemistry,** v. 50, n. 39, p.8264-8269, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi201284u> Acesso 4 fev. 2018

NOVOZYMES BIOENERGY. **The Novozymes Enzymatic Biodiesel Handbook**, Novozymes Bioenergy, 2014.

PALMER, T.; BONNER, P. L. **Enzymes**: Biochemistry, Biotechnology and Clinical Chemistry. 2 ed, 2007.

PARTICLE SCIENCE. Protein structure. **Technical Brief**, v. 8. 2009. Disponível em: <http://www.particlesciences.com/news/technical-briefs/2009/protein-structure.html> Acesso 9 dez. 2017

PENARRUBIA FERNADEZ, I. A.; LIU, D.; ZHAO, J. LCA studies alkaline and immobilized enzyme catalyst processes for biodiesel production under Brazilian conditions. **Resources, Conservation and Recycling**, v.3270, p. 1-11, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2016.05.009> Acesso 18 out. 2018.

PRADO, J. N. **Estudo do programa nacional de produção e uso do biodiesel (PNPB). Uma análise sobre os municípios produtores de soja e as cooperativas da agricultura familiar**. 2015. Tese de Doutorado em Economia Aplicada - Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG, 2015. Disponível em: <http://www.ufjf.br/poseconomia/files/2015/05/Tese-Jefferson-Nery-do-Prado.pdf > Acesso 8 nov. 2017.

PRICE, J. A. **Modelling and operation of reactors for enzymatic biodiesel production**. 2014. Chemical and Biochemical Engineering Ph. D - Technical University of Denmark, 2014. Disponível em: <http://orbit.dtu.dk/files/104999696/Jason_Price_978_87_93054_58_5_version_2.pdf> Acesso 15 set. 2017.

ROYON, D.; DAZ, M.; ELLENRIEDER, G.; LOCATELLI, S. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using *t*-butanol as a solvent. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 648-653, 2007. Disponível em: <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.625.8584&rep=rep1&type=pdf> Acesso 20 set. 2017.

SEKEROGLU, G.; FADILOGLU, S.; IBANOGLU, E. Production and Characterization of Isopropyl Laurate Using Immobilized Lipase. **Turkish J. Eng. Env. Sci.**, v. 28, p. 241-247, 2004. Disponível em: <https://pdfs.semanticscholar.org/084d/d1c34a7522d0021b6696a65c45a72a18389b.pdf> Acesso 4 out. 2017.

SHIMADA, Y. et al. Conversion of Vegetable Oil to Biodiesel Using Immobilized Candida antarctica Lipase. **JAOCS**, v. 76p. 789-793, 1999. Disponível em: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOCS/J.AOCS/1999/no.7/jul1999,vol76,no7,p789-793.pdf> Acesso 4 jan. 2018.

SHULER, M. L.; KARGI, F. The basics of Biology: An engineer`s perspective e Enzymes. p. 11-55. IN: SHULER, M. L.; KARGI, F. **Bioprocess Engineering**: Basic Concepts. 2. Ed. Prentice Hall PTR. Nova Iorque, NY, 2012.

SUNGGYU, L. **Alternative fuels**. 1. Ed. EUA: Taylor & Francis, 1996.

TAN, Y. H.; ADBULLAH, M. O.; NOLASCO-HIPOLITO, C. The potential of waste cooking oil-based biodiesel using heterogeneous catalyst derived from various calcined eggshells coupled with an emulsification technique: A review on the emission reduction and engine performance. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 47, p. 589-603, 2015. Disponível em: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032115002014> Acesso 25 out. 2018.

TAN, T. et al. Biodiesel production with immobilized lipase: A review. **Biotechnology Advances**, v. 28, p. 628-634, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.05.012> Acesso 2 set. 2018.

TURTON, R. et al. **Analysis, synthesis, and design of chemical processes**. 2. Ed. Prentice Hall PTR. Nova Jersey, EUA. 2003.

WALSH, G. Protein structure and engineering. p. 25-63. IN: WALSH, G. **Proteins:** Biochemistry and biotechnology. Wiley Blackwell. Ed. 2. Oxford, 2014.

WANG, X. et al. One-step synthesis oh high biodiesel from waste cooking oils by a novel and highly methanol tolerant immobilized lipase. **Bioresource Technology**, v. 235, p. 18-24, 2017. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.03.086> Acesso 5 nov. 2017.

WATANABE, Y. et al. Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida Antarctica* Lipase. **JAOCS**, v. 77, p. 355-360, 2000. Disponível em: <http://lib3.dss.go.th/fulltext/Journal/J.AOCS/J.AOCS/2000/no.4/apr2000vol77,no4,p355-360.pdf> Acesso 12 out. 2017.

YOU, Q. et al. Biodiesel production from jathopra oil catalyzed by immobilized *Burkholderia cepacia* lipase on modified attapulgite. **Bioresource Technology**, v.148, p. 202-207, 2013. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.143> Acesso 3 nov. 2017.

ZACKS, A. Enzymes in organic solvents. p. 161-180. IN: DORRDICK, J. S. [ed]. **Biocatalysts for industry**. Plenum Press, Nova Iorque, N.Y, 2010.

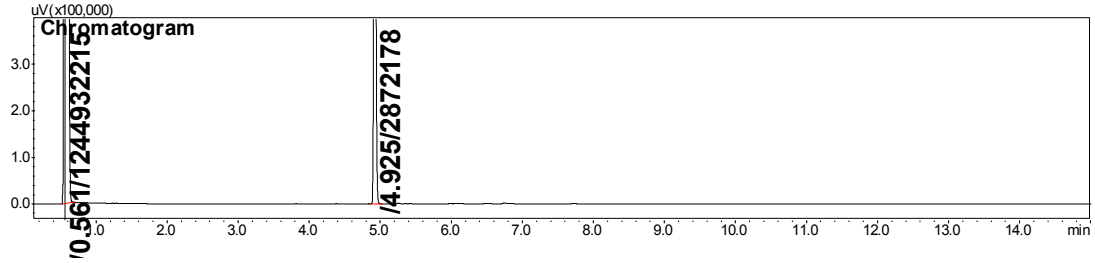
# APÊNDICE A – CROMATOGRAMAS DAS AMOSTRAS PADRÕES

Tabela 24 - Massas molares dos ésteres metílicos

| Ester | Massa molar (g/mol) |
|---|---|
| Laurato de metila | 214,34 |
| Miristato de metila | 242,4 |
| Palmitoleato de metila | 268,43 |
| Palmitato de metila | 270,46 |
| ϒ-Linolenato de metila | 292,46 |
| Linoleato de metila | 294,34 |
| Oleato de metila | 296,49 |
| Estearato de metila | 298,5 |

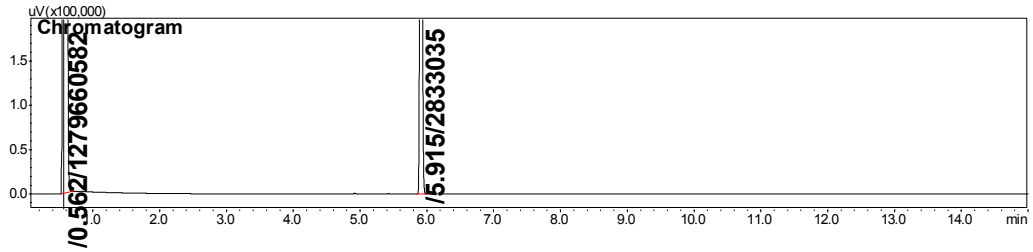
Fonte: Autora

Figura 18 - Cromatograma do padrão de laurato de metila



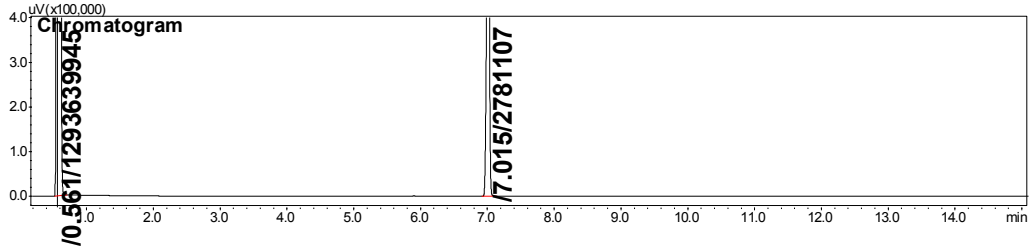

Fonte: Autora

Figura 19 - Cromatograma do padrão de miristato de metila



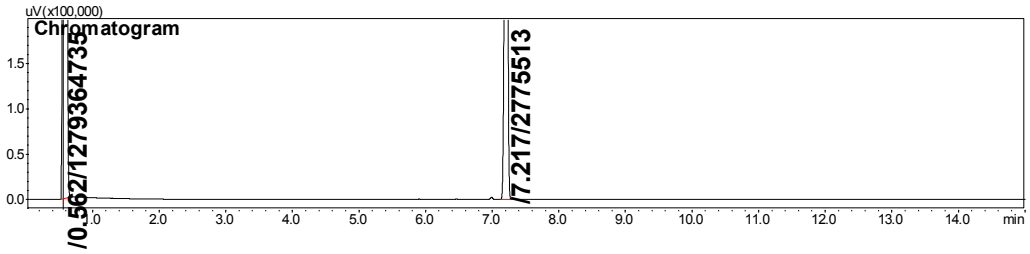

Fonte: Autora

Figura 20 - Cromatograma do padrão de palmitoleato de metila



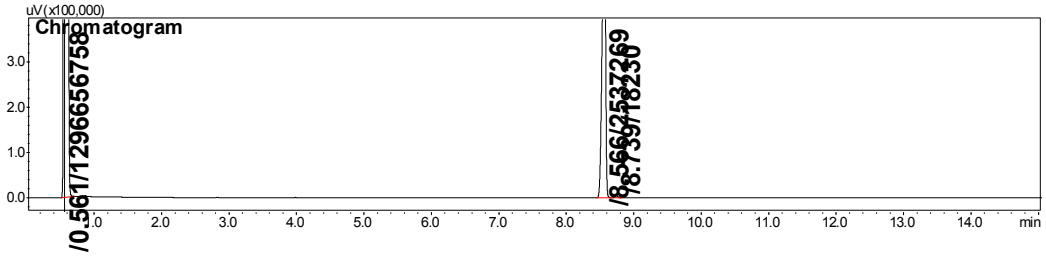

Fonte: Autora

Figura 21 - Cromatograma do padrão de palmitato de metila



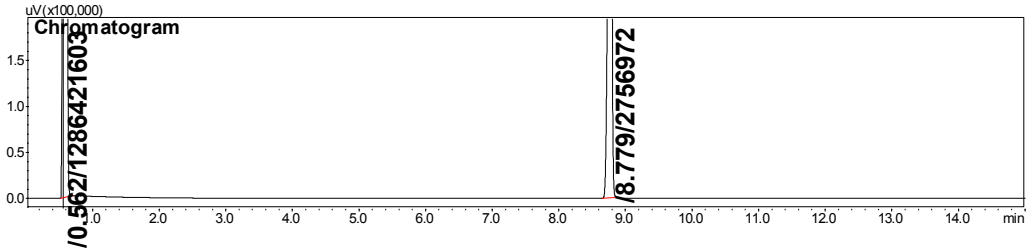

Fonte: Autora

Figura 22 - Cromatograma do padrão de ϒ-linolenato de metila



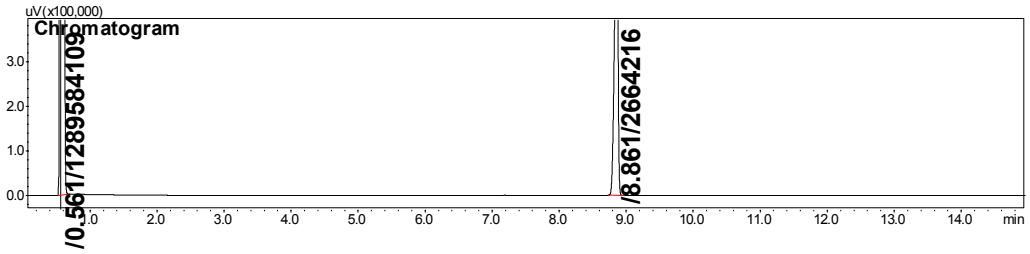

Fonte: Autora

Figura 23 - Cromatograma do padrão de linoleato de metila



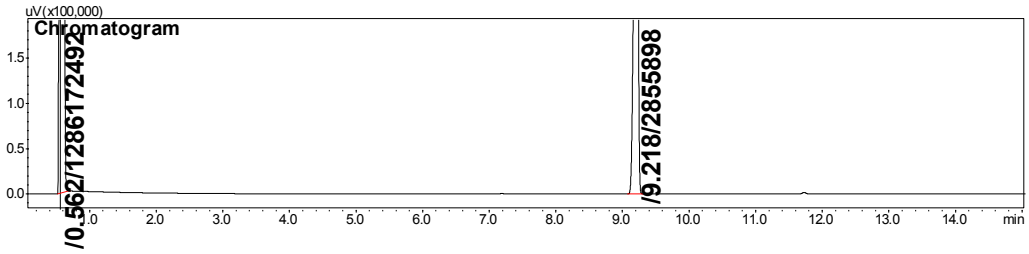

Fonte: Autora

Figura 24 - Cromatograma do padrão de oleato de metila




Fonte: Autora

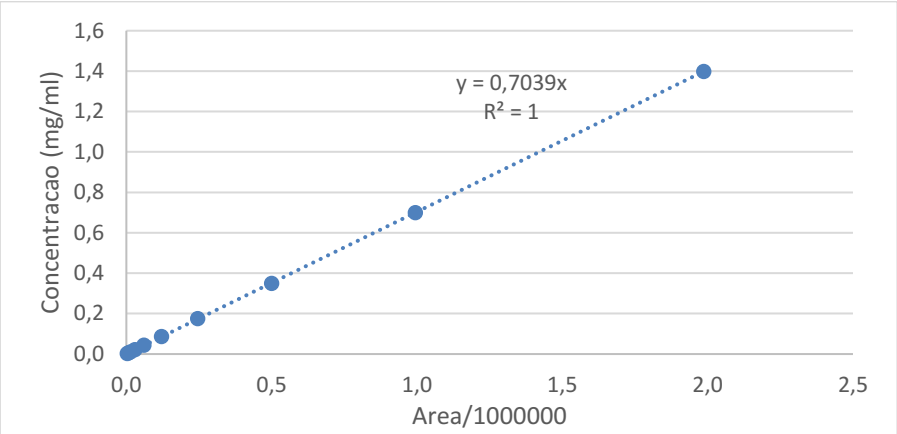
Figura 25 - Cromatograma do padrão de estereato de metila




Fonte: Autora

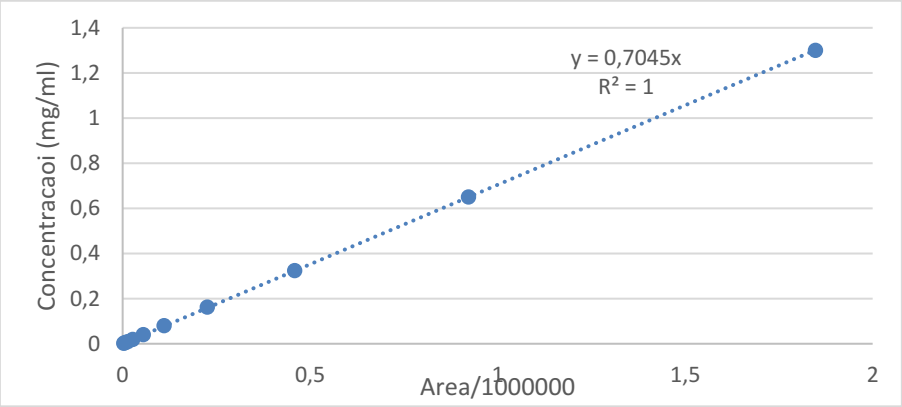
# APÊNDICE B – CURVAS DE CALIBRAÇÃO DOS PADRÕES

Figura 26 - Curva de calibração do laurato de metila



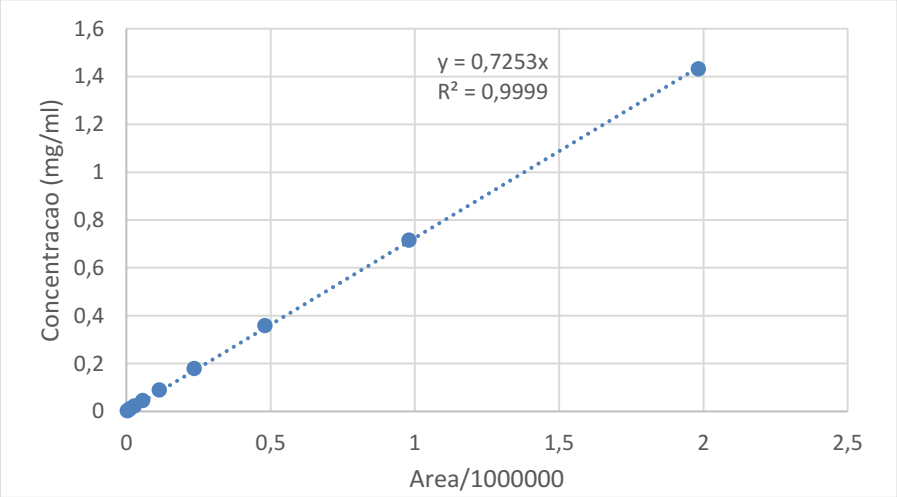

Fonte: Autora

Figura 27 - Curva de calibração do miristato de metila



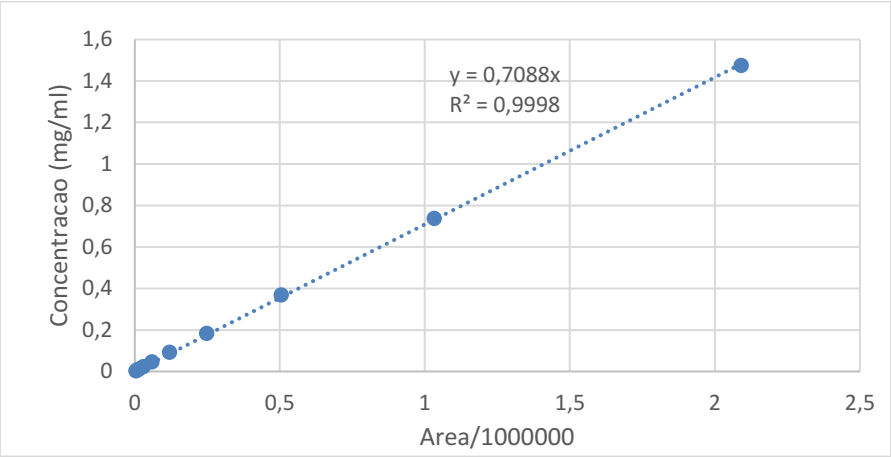

Fonte: Autora

Figura 28 - Curva de calibração do palmitoleato de metila



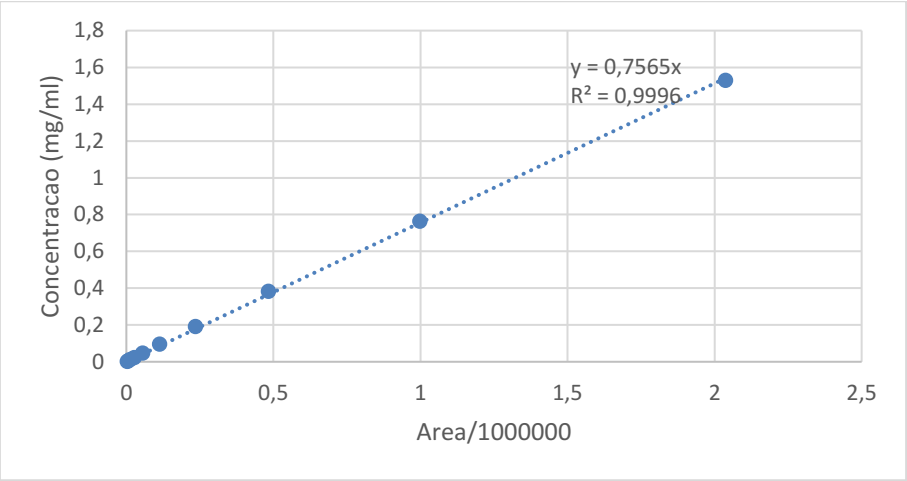

Fonte: Autora

Figura 29 - Curva de calibração do palmitato de metila



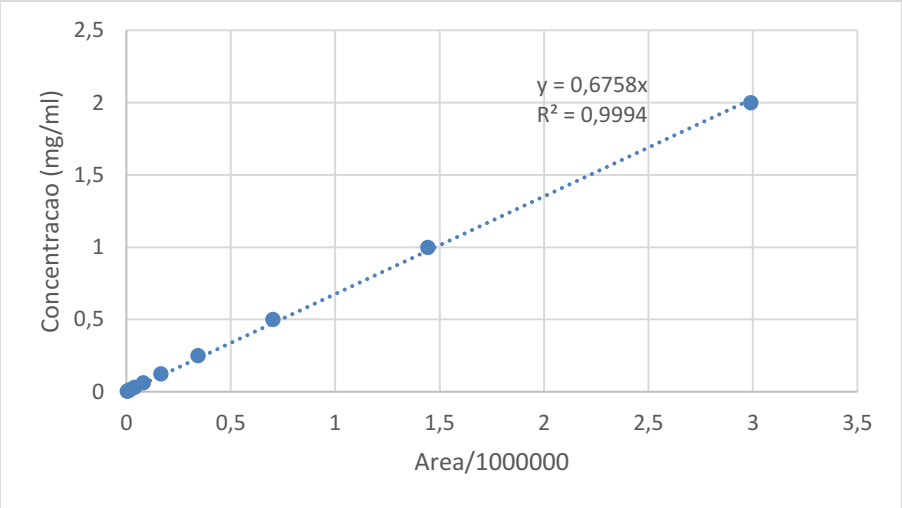

Fonte: Autora

Figura 30 - Curva de calibração do Gama-Linolenato de metila



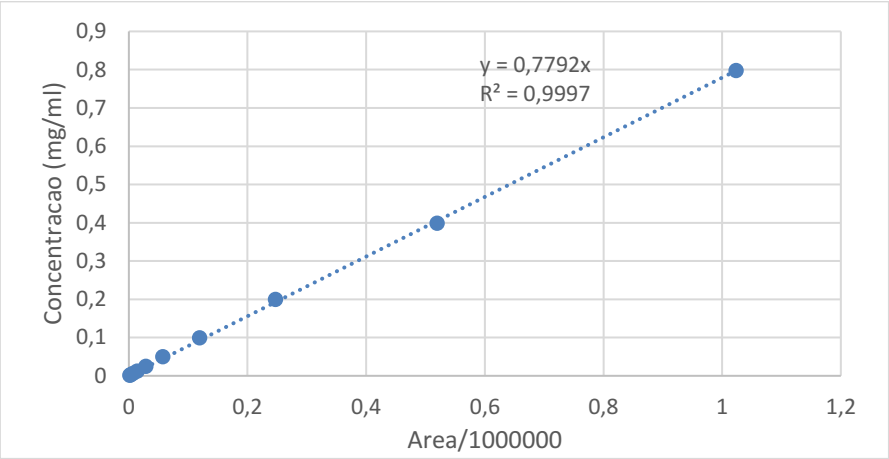

Fonte: Autora

Figura 31 - Curva de calibração do linoleato de metila



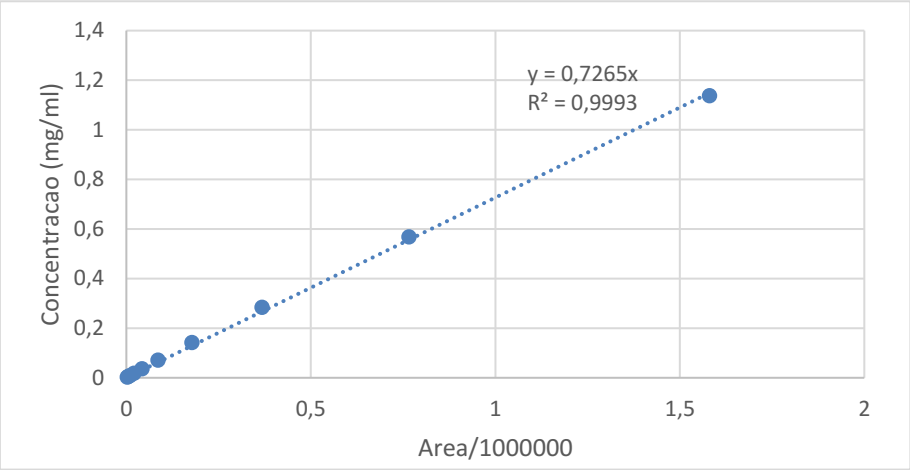

Fonte: Autora

Figura 32 - Curva de calibração do oleato de metila




Fonte: Autora

Figura 33 - Curva de calibração do estearato de metila




Fonte: Autora

# APÊNDICE C – TABELAS DO COSSOLVENTE

Tabela 25 - Dados das amostras da determinação de cossolvente

| Amostra | Ensaio | $m_{óleo}$ (g) | $m_e$ (g) | $m_a$ (mg) | $v_a$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| Branco | 1 | 10,009 | 8,973 | 10,3 | 5,15 |
| | 2 | 10,027 | 8,781 | 12,3 | 6,15 |
| H81 | 1 | 10,170 | 9,456 | 10,6 | 5,30 |
| | 2 | 10,015 | 9,454 | 9,5 | 4,75 |
| H41 | 1 | 10,004 | 10,412 | 9,1 | 4,55 |
| | 2 | 10,025 | 10,723 | 10,2 | 5,10 |
| H21 | 1 | 9,995 | 11,944 | 8,0 | 4,00 |
| | 2 | 10,011 | 11,772 | 12,0 | 6,00 |
| H11 | 1 | 10,018 | 14,929 | 10,2 | 5,10 |
| | 2 | 10,024 | 14,322 | 14,1 | 7,05 |
| H12 | 1 | 10,016 | 21,140 | 9,0 | 4,50 |
| | 2 | 10,003 | 19,999 | 10,9 | 5,45 |
| H14 | 1 | 10,007 | 31,395 | 9,3 | 4,65 |
| | 2 | 10,016 | 31,090 | 13,3 | 6,65 |
| T201 | 1 | 10,010 | 9,321 | 17,5 | 8,75 |
| | 2 | 10,023 | 8,831 | 17,4 | 8,70 |
| T151 | 1 | 10,014 | 8,918 | 17,2 | 8,60 |
| | 2 | 10,029 | 8,742 | 15,0 | 7,50 |
| T101 | 1 | 10,038 | 9,643 | 10,4 | 5,20 |
| | 2 | 10,008 | 9,857 | 13,8 | 6,90 |
| T81 | 1 | 10,056 | 10,142 | 14,3 | 7,15 |
| | 2 | 10,028 | 10,133 | 15,5 | 7,75 |
| T41 | 1 | 10,030 | 10,983 | 13,0 | 6,50 |
| | 2 | 10,007 | 10,860 | 12,0 | 6,00 |
| T21 | 1 | 10,009 | 12,582 | 10,8 | 5,40 |
| | 2 | 10,018 | 12,176 | 14,7 | 7,35 |
| T11 | 1 | 10,010 | 16,062 | 8,4 | 4,20 |
| | 2 | 10,004 | 15,769 | 12,9 | 6,45 |
| T14 | 1 | 10,007 | 36,738 | 10,2 | 5,05 |
| | 2 | 10,024 | 38,631 | 10,8 | 5,40 |

Fonte: Autora

Tabela 26 - Resultados da transesterificação da amostra Branco - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0051 | 14,87 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.251 | 74519,5 | 0,0528 | 0,0264 | 0,0009 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.819 | 244798,6 | 0,1654 | 0,0827 | 0,0025 | | |
| Oleato | 8.899 | 126051,9 | 0,0982 | 0,0491 | 0,0015 | | |
| Estearato | 9.254 | 16666,3 | 0,0121 | 0,0061 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 27 - Resultados da transesterificação da amostra Branco - 2

| Ester metílico | t (min) | Area | ci,a (mg/ml) | fi | ni (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0047 | 13,76 |
| Miristo | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.252 | 73166,2 | 0,0519 | 0,0259 | 0,0008 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.821 | 231500,6 | 0,1564 | 0,0782 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.889 | 117244,3 | 0,0914 | 0,0457 | 0,0014 | | |
| Estearato | 9.249 | 15803,1 | 0,0115 | 0,0057 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 28 - Resultados da transesterificação da amostra H81 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0047 | 13,81 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.249 | 67662,3 | 0,0480 | 0,0240 | 0,0008 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.818 | 209783,5 | 0,1418 | 0,0709 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.897 | 113855,2 | 0,0887 | 0,0444 | 0,0014 | | |
| Estearato | 9.253 | 15406,8 | 0,0112 | 0,0056 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 29 - Resultados da transesterificação da amostra H81 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0048 | 14,11 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.250 | 65992,7 | 0,0468 | 0,0234 | 0,0008 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.818 | 210537,1 | 0,1423 | 0,0711 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.889 | 123004,7 | 0,0958 | 0,0479 | 0,0015 | | |
| Estearato | 9.251 | 15660,9 | 0,0114 | 0,0057 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 30 - Resultados da transesterificação da amostra H41 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0047 | 13,76 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.251 | 60828 | 0,0431 | 0,0216 | 0,0008 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.818 | 195315,1 | 0,1320 | 0,0660 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.899 | 98565,1 | 0,0768 | 0,0384 | 0,0013 | | |
| Estearato | 9.253 | 13768,7 | 0,0100 | 0,0050 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 31 Resultados da transesterificação da amostra H41 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0049 | 14,35 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.251 | 62022,7 | 0,0440 | 0,0220 | 0,0009 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.820 | 197880,2 | 0,1337 | 0,0669 | 0,0024 | | |
| Oleato | 8.898 | 99274,1 | 0,0774 | 0,0387 | 0,0014 | | |
| Estearato | 9.253 | 14663,3 | 0,0107 | 0,0053 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 32 - Resultados da transesterificação da amostra H21 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0042 | 12,34 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.250 | 49445,1 | 0,0350 | 0,0175 | 0,0008 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.817 | 146837 | 0,0992 | 0,0496 | 0,0020 | | |
| Oleato | 8.897 | 79358,3 | 0,0618 | 0,0309 | 0,0012 | | |
| Estearato | 9.252 | 11468,3 | 0,0083 | 0,0042 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 33 - Resultados da transesterificação da amostra H21 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0047 | 13,65 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.252 | 56011 | 0,0397 | 0,0199 | 0,0009 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.819 | 172753,4 | 0,1167 | 0,0584 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.898 | 77822,6 | 0,0606 | 0,0303 | 0,0012 | | |
| Estearato | 9.253 | 17287,5 | 0,0126 | 0,0063 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 34 - Resultados da transesterificação da amostra H11 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0047 | 13,87 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.250 | 45121 | 0,0320 | 0,0160 | 0,0009 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.817 | 132184,3 | 0,0893 | 0,0447 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8.897 | 71069,1 | 0,0554 | 0,0277 | 0,0014 | | |
| Estearato | 9.253 | 10389,3 | 0,0075 | 0,0038 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 35 - Resultados da transesterificação da amostra H11 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0050 | 14,54 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.251 | 47348,7 | 0,0336 | 0,0168 | 0,0009 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.817 | 153337,1 | 0,1036 | 0,0518 | 0,0025 | | |
| Oleato | 8.899 | 71679,6 | 0,0559 | 0,0279 | 0,0013 | | |
| Estearato | 9.252 | 11677,7 | 0,0085 | 0,0042 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 36 - Resultados da transesterificação da amostra H14 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0145 | 42,44 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.249 | 49635,9 | 0,0352 | 0,0176 | 0,0020 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.819 | 204647,3 | 0,1383 | 0,0692 | 0,0074 | | |
| Oleato | 8.899 | 109840,5 | 0,0856 | 0,0428 | 0,0045 | | |
| Estearato | 9.253 | 13269,2 | 0,0096 | 0,0048 | 0,0005 | | |

Fonte: Autora

Tabela 37 - Resultados da transesterificação da amostra H14 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0148 | 43,50 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.250 | 47218,5 | 0,0335 | 0,0167 | 0,0019 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.816 | 212533,5 | 0,1436 | 0,0718 | 0,0076 | | |
| Oleato | 8.899 | 116155,3 | 0,0905 | 0,0453 | 0,0047 | | |
| Estearato | 9.254 | 15282,7 | 0,0111 | 0,0056 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 38 - Resultados da transesterificação da amostra T201 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0102 | 29,97 |
| Miristato | 5,897 | 1076,6 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,179 | 139989,3 | 0,0992 | 0,0496 | 0,0017 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,73 | 473575,2 | 0,3200 | 0,1600 | 0,0051 | | |
| Oleato | 8,808 | 247233,9 | 0,1926 | 0,0963 | 0,0030 | | |
| Estearato | 9,156 | 34709,3 | 0,0252 | 0,0126 | 0,0004 | | |

Fonte: Autora

Tabela 39 - Resultados da transesterificação da amostra T201 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0105 | 30,69 |
| Miristato | 5,897 | 1105 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,179 | 145680,3 | 0,1033 | 0,0516 | 0,0017 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,731 | 529915,4 | 0,3581 | 0,1791 | 0,0054 | | |
| Oleato | 8,808 | 259258,6 | 0,2020 | 0,1010 | 0,0030 | | |
| Estearato | 9,155 | 36509,3 | 0,0265 | 0,0133 | 0,0004 | | |

Fonte: Autora

Tabela 40 - Resultados da transesterificação da amostra T151 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0244 | 71,60 |
| Miristato | 5,897 | 1575,8 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1866,7 | 0,0014 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 248505,4 | 0,1761 | 0,0881 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,746 | 1272278 | 0,8598 | 0,4299 | 0,0130 | | |
| Oleato | 8,822 | 656324,6 | 0,5114 | 0,2557 | 0,0077 | | |
| Estearato | 9,158 | 68332 | 0,0496 | 0,0248 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 41 - Resultados da transesterificação da amostra T151 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0251 | 73,65 |
| Miristato | 5,897 | 1687,4 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1977,2 | 0,0014 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 256344,9 | 0,1817 | 0,0908 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,747 | 1329197 | 0,8983 | 0,4491 | 0,0133 | | |
| Oleato | 8,823 | 702203,5 | 0,5472 | 0,2736 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9,157 | 71449,8 | 0,0519 | 0,0260 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 42 - Resultados da transesterificação da amostra T101 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0213 | 62,48 |
| Miristato | 5.941 | 1141,8 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.053 | 1492 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.255 | 187724,8 | 0,1331 | 0,0665 | 0,0024 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.840 | 1023672,1 | 0,6918 | 0,3459 | 0,0113 | | |
| Oleato | 8.919 | 552216,9 | 0,4303 | 0,2151 | 0,0070 | | |
| Estearato | 9.261 | 52148,8 | 0,0379 | 0,0189 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 43 - Resultados da transesterificação da amostra T101 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0250 | 73,39 |
| Miristato | 5.941 | 17511,8 | 0,0123 | 0,0062 | 0,0003 | | |
| Palmitoleato | 7.055 | 1620,6 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.255 | 15697,1 | 0,0111 | 0,0056 | 0,0002 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.842 | 1440729,4 | 0,9736 | 0,4868 | 0,0163 | | |
| Oleato | 8.920 | 582735,4 | 0,4541 | 0,2270 | 0,0075 | | |
| Estearato | 9.261 | 56288 | 0,0409 | 0,0204 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 44 - Resultados da transesterificação da amostra T81 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0255 | 74,52 |
| Miristato | 5.941 | 1392,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.053 | 1847,1 | 0,0013 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.255 | 218214,8 | 0,1547 | 0,0773 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.840 | 1127333,3 | 0,7619 | 0,3809 | 0,0131 | | |
| Oleato | 8.918 | 649057,2 | 0,5057 | 0,2529 | 0,0087 | | |
| Estearato | 9.260 | 63791,5 | 0,0463 | 0,0232 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 45 - Resultados da transesterificação da amostra T81 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0253 | 74,18 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.248 | 235146,8 | 0,1667 | 0,0833 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.836 | 1222349 | 0,8261 | 0,4130 | 0,0131 | | |
| Oleato | 8.914 | 701542,1 | 0,5466 | 0,2733 | 0,0086 | | |
| Estearato | 9.252 | 66135,9 | 0,0480 | 0,0240 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 46 - Resultados da transesterificação da amostra T41 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0225 | 65,86 |
| Miristato | 5.941 | 1175,6 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.052 | 1372,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.254 | 177498,2 | 0,1258 | 0,0629 | 0,0026 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.838 | 931492,3 | 0,6295 | 0,3148 | 0,0117 | | |
| Oleato | 8.916 | 517618,8 | 0,4033 | 0,2017 | 0,0075 | | |
| Estearato | 9.259 | 50834,9 | 0,0369 | 0,0185 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 47 - Resultados da transesterificação da amostra T41 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0219 | 64,41 |
| Miristato | 5.940 | 1808,1 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.053 | 1073,2 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.254 | 170911,4 | 0,1211 | 0,0606 | 0,0024 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.837 | 906641,4 | 0,6127 | 0,3064 | 0,0113 | | |
| Oleato | 8.916 | 525730 | 0,4096 | 0,2048 | 0,0075 | | |
| Estearato | 9.257 | 50014,7 | 0,0363 | 0,0182 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 48 - Resultados da transesterificação da amostra T21 – 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0219 | 64,17 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | 7.050 | 1090,8 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.251 | 153311,4 | 0,1087 | 0,0543 | 0,0025 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.831 | 799250,6 | 0,5401 | 0,2701 | 0,0115 | | |
| Oleato | 8.909 | 430421,9 | 0,3354 | 0,1677 | 0,0071 | | |
| Estearato | 9.254 | 42885,2 | 0,0312 | 0,0156 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 49 - Resultados da transesterificação da amostra T21 – 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0212 | 62,28 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | 7.051 | 1152 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.251 | 154537,3 | 0,1095 | 0,0548 | 0,0025 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.833 | 790821,9 | 0,5344 | 0,2672 | 0,0111 | | |
| Oleato | 8.962 | 441006,7 | 0,3436 | 0,1718 | 0,0071 | | |
| Estearato | 9.257 | 43370,2 | 0,0315 | 0,0158 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 50 - Resultados da transesterificação da amostra T11 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0200 | 58,76 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.250 | 106485,4 | 0,0755 | 0,0377 | 0,0022 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.825 | 576681,5 | 0,3897 | 0,1949 | 0,0106 | | |
| Oleato | 8.905 | 311301,3 | 0,2426 | 0,1213 | 0,0066 | | |
| Estearato | 9.254 | 29545,4 | 0,0215 | 0,0107 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 51 - Resultados da transesterificação da amostra T11 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0201 | 58,95 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.252 | 113557,2 | 0,0805 | 0,0402 | 0,0023 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.829 | 586618 | 0,3964 | 0,1982 | 0,0106 | | |
| Oleato | 8.951 | 316249,4 | 0,2464 | 0,1232 | 0,0066 | | |
| Estearato | 9.256 | 28922,2 | 0,0210 | 0,0105 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 52 - Resultados da transesterificação da amostra T14 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0156 | 45,75 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | 7.249 | 37193,5 | 0,0270 | 0,0134 | 0,0018 | | |
| Palmitato | - | - | - | - | - | | |
| ϒ-Linoleato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.818 | 194031,3 | 0,1311 | 0,0649 | 0,0081 | | |
| Oleato | 8.899 | 108494,4 | 0,0845 | 0,0419 | 0,0052 | | |
| Estearato | 9.252 | 10575,6 | 0,0077 | 0,0038 | 0,0005 | | |

Fonte: Autora

Tabela 53 - Resultados da transesterificação da amostra T14 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,016 | 47,41 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | 7.248 | 33015,2 | 0,0239 | 0,0120 | 0,0017 | | |
| Palmitato | - | - | - | - | - | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.820 | 183277,3 | 0,1239 | 0,0619 | 0,0081 | | |
| Oleato | 8.899 | 111085,6 | 0,0866 | 0,0433 | 0,0056 | | |
| Estearato | 9.252 | 14603 | 0,0106 | 0,0053 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 54 - Resultados das conversões obtidas no estudo do cossolvente

| Amostra | 1 | 2 | Média | Desvio padrão |
|---|---|---|---|---|
| Branco | 13,76 | 14,87 | 14,32 | 0,785 |
| H81 | 14,11 | 13,81 | 13,96 | 0,215 |
| H41 | 14,35 | 13,77 | 14,06 | 0,414 |
| H21 | 13,64 | 12,34 | 12,99 | 0,917 |
| H11 | 14,54 | 13,87 | 14,21 | 0,471 |
| H14 | 43,50 | 42,44 | 42,97 | 0,752 |
| T201 | 29,97 | 30,69 | 30,33 | 0,509 |
| T151 | 71,60 | 73,65 | 72,62 | 1,455 |
| T101 | 71,30 | 73,39 | 72,35 | 1,455 |
| T81 | 74,52 | 74,18 | 74,35 | 0,239 |
| T41 | 65,86 | 64,41 | 65,14 | 1,027 |
| T21 | 64,17 | 62,28 | 63,22 | 1,334 |
| T11 | 58,76 | 58,95 | 58,86 | 0,134 |
| T14 | 45,75 | 47,40 | 46,58 | 1,166 |

Fonte: Autora

# APÊNDICE D – TABELAS DA QUANTIDADE DE ÁGUA

Tabela 55 - Dados das amostras da determinação do teor de água

| %água | Ensaio | $m_{óleo}$ (g) | $m_e$ (g) | $m_a$ (mg) | $v_a$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 1 | 10,019 | 9,437 | 14,9 | 7,45 |
| | 2 | 10,033 | 9,795 | 18,2 | 9,10 |
| 0,5 | 1 | 9,988 | 10,157 | 13,8 | 6,90 |
| | 2 | 10,005 | 10,101 | 15,9 | 7,95 |
| 3 | 1 | 9,985 | 10,369 | 12,8 | 6,40 |
| | 2 | 10,023 | 10,293 | 12,7 | 6,35 |
| 6 | 1 | 10,004 | 10,863 | 12,4 | 6,20 |
| | 2 | 9,997 | 10,664 | 15,3 | 7,35 |

Fonte: Autora

Tabela 56 - Resultados da transesterificação da amostra 0% de água - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0259 | 75,93 |
| Miristato | 5.936 | 1532,5 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.045 | 1837,2 | 0,0013 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.247 | 237964,6 | 0,1687 | 0,0843 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.835 | 1237367 | 0,8362 | 0,4181 | 0,0134 | | |
| Oleato | 8.913 | 704386,8 | 0,5489 | 0,2744 | 0,0087 | | |
| Estearato | 9.252 | 67071,8 | 0,0487 | 0,0244 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 57 - Resultados da transesterificação da amostra 0% de água - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0261 | 76,33 |
| Miristato | 5.940 | 1292,4 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.045 | 1585,3 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.248 | 206821,2 | 0,1466 | 0,0733 | 0,0027 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.833 | 1251028 | 0,8454 | 0,4227 | 0,0141 | | |
| Oleato | 8.910 | 670827,4 | 0,5227 | 0,2614 | 0,0086 | | |
| Estearato | 9.252 | 56751,1 | 0,0412 | 0,0206 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 58 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de água - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0249 | 73,33 |
| Miristato | 5.937 | 1329,7 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 7.047 | 1612,9 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.248 | 221151,8 | 0,1568 | 0,0784 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.832 | 1126990 | 0,7616 | 0,3808 | 0,0131 | | |
| Oleato | 8.909 | 605047,1 | 0,4715 | 0,2357 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9.250 | 59239 | 0,0430 | 0,0215 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 59 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de água - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0246 | 72,19 |
| Miristato | 5.936 | 12650,7 | 0,0089 | 0,0045 | 0,0002 | | |
| Palmitoleato | 7.047 | 15411,3 | 0,0112 | 0,0056 | 0,0002 | | |
| Palmitato | 7.250 | 220928,3 | 0,1566 | 0,0783 | 0,0029 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.837 | 1072094 | 0,7245 | 0,3623 | 0,0124 | | |
| Oleato | 8.910 | 609805,1 | 0,4752 | 0,2376 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9.250 | 60414,2 | 0,0439 | 0,0219 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 60 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de água - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0079 | 23,39 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.245 | 77438 | 0,0549 | 0,0274 | 0,0011 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.815 | 360226,3 | 0,2434 | 0,1217 | 0,0043 | | |
| Oleato | 8.893 | 175089,2 | 0,1364 | 0,0682 | 0,0024 | | |
| Estearato | 9.248 | 17736,3 | 0,0129 | 0,0064 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 61 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de água - 2

| Éster metílico | t (min) | Area | ci (mg/ml) | fi | ni (mol) | | Xi (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0078 | 22,88 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.241 | 74110,7 | 0,0525 | 0,0263 | 0,0010 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.819 | 370162,5 | 0,2502 | 0,1251 | 0,0044 | | |
| Oleato | 8.890 | 166271,3 | 0,1296 | 0,0648 | 0,0022 | | |
| Estearato | 9.251 | 14678,8 | 0,0107 | 0,0053 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 62 - Resultados da transesterificação da amostra 6% de água - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0001 | 0,21 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.247 | 1150,2 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.811 | 2679,8 | 0,0018 | 0,0009 | 0,0000 | | |
| Oleato | 8.905 | 1600,9 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Estearato | | | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | | |

Fonte: Autora

Tabela 63 - Resultados da transesterificação da amostra 6% de água - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0001 | 0,24 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7.242 | 1304 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.817 | 2833,1 | 0,0019 | 0,0010 | 0,0000 | | |
| Oleato | 8.982 | 1947,6 | 0,0015 | 0,0008 | 0,0000 | | |
| Estearato | 9.253 | | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | | |

Fonte: Autora

# APÊNDICE E – TABELAS DA RAZÃO MOLAR

Tabela 64 - Dados das amostras da determinação da razão molar metanol/óleo

| Razão molar | Ensaio | $m_{oleo}$ (g) | $m_e$ (g) | $m_a$ (mg) | $v_a$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 3:3 | 1 | 10,045 | 9,0891 | 18,6 | 9,3 |
| | 2 | 10,086 | 9,0293 | 15,8 | 7,9 |

Fonte: Autora

Tabela 65 - Resultados da transesterificação da amostra da razão molar 3:3 - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0228 | 66,68 |
| Miristato | 5,897 | 1421,9 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1699 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 219300 | 0,1554 | 0,0777 | 0,0026 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 1183046 | 0,7995 | 0,3998 | 0,0123 | | |
| Oleato | 8,819 | 596584 | 0,4649 | 0,2324 | 0,0071 | | |
| Estearato | 9,155 | 61366,8 | 0,0446 | 0,0223 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 66 - Resultados da transesterificação da amostra da razão molar 3:3 - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0225 | 65,54 |
| Miristato | 5,898 | 1382,2 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1642,7 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 215664,2 | 0,1529 | 0,0764 | 0,0026 | | |
| ϒ -Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,745 | 1174887,8 | 0,7940 | 0,3970 | 0,0122 | | |
| Oleato | 8,82 | 595761,2 | 0,4642 | 0,2321 | 0,0071 | | |
| Estearato | 9,158 | 60766,6 | 0,0441 | 0,0221 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

# APÊNDICE F – TABELAS DA QUANTIDADE DE CATALISADOR

Tabela 67 - Dados das amostras da determinação da quantidade de catalisador

| %enzima | Ensaio | $m_{oleo}$ (g) | $m_e$ (g) | $m_a$ (mg) | $v_a$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,3 | 1 | 10,026 | 11,6533 | 15,9 | 7,95 |
| | 2 | 9,9981 | 11,5386 | 15,8 | 7,90 |
| 0,5 | 1 | 10,01 | 11,6414 | 15,3 | 7,65 |
| | 2 | 10,0238 | 11,541 | 12,5 | 6,25 |
| 0,8 | 1 | 9,9907 | 11,2804 | 15,8 | 7,90 |
| | 2 | 10,0102 | 11,0751 | 18,8 | 9,40 |
| 1 | 1 | 10,0305 | 11,0094 | 17,4 | 8,70 |
| | 2 | 10,0496 | 11,2539 | 16,6 | 8,30 |
| 1,5 | 1 | 9,985 | 10,6192 | 14,8 | 7,40 |
| | 2 | 9,9995 | 10,5614 | 15,3 | 7,65 |
| 2 | 1 | 10,0097 | 10,583 | 15 | 7,50 |
| | 2 | 10,006 | 10,329 | 16,7 | 8,35 |
| 2,5 | 1 | 9,992 | 10,453 | 14,6 | 7,30 |
| | 2 | 10,046 | 10,529 | 12,4 | 6,20 |
| 3 | 1 | 10,014 | 10,151 | 12,4 | 6,20 |
| | 2 | 9,998 | 10,201 | 10,9 | 5,45 |
| 3,5 | 1 | 10,014 | 9,995 | 13,7 | 6,85 |
| | 2 | 10,023 | 9,911 | 16,7 | 8,35 |
| 4 | 1 | 10,003 | 9,754 | 12,6 | 6,30 |
| | 2 | 10,062 | 9,669 | 13,4 | 6,70 |
| 4,5 | 1 | 10,051 | 9,657 | 12,1 | 6,05 |
| | 2 | 10,027 | 9,522 | 15,4 | 7,70 |
| 5 | 1 | 10,278 | 9,572 | 15,4 | 7,70 |
| | 2 | 10,005 | 9,456 | 17,2 | 8,60 |

Fonte: Autora

Tabela 68 - Resultados da transesterificação da amostra 0,3% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0136 | 39,82 |
| Miristato | 5,897 | 1102,5 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,18 | 156437,6 | 0,1109 | 0,0554 | 0,0024 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,731 | 475439,3 | 0,3213 | 0,1607 | 0,0064 | | |
| Oleato | 8,808 | 275055,3 | 0,2143 | 0,1072 | 0,0042 | | |
| Estearato | 9,156 | 43002,5 | 0,0312 | 0,0156 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 69 - Resultados da transesterificação da amostra 0,3% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0140 | 41,13 |
| Miristato | 5,898 | 1085,7 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,18 | 158499,8 | 0,1123 | 0,0562 | 0,0024 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,733 | 507376,5 | 0,3429 | 0,1714 | 0,0067 | | |
| Oleato | 8,81 | 280114 | 0,2183 | 0,1091 | 0,0042 | | |
| Estearato | 9,157 | 43777,2 | 0,0318 | 0,0159 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 70 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0185 | 54,28 |
| Miristato | 5,898 | 1275,2 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1176,1 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 184502,4 | 0,1308 | 0,0654 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 681378,5 | 0,4605 | 0,2302 | 0,0091 | | |
| Oleato | 8,814 | 379174,8 | 0,2955 | 0,1477 | 0,0058 | | |
| Estearato | 9,158 | 51856,9 | 0,0377 | 0,0188 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 71 - Resultados da transesterificação da amostra 0,5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0179 | 52,36 |
| Miristato | 5,898 | 1210,6 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1203,3 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 178478,6 | 0,1265 | 0,0633 | 0,0027 | | |
| Linoleato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 669275,2 | 0,4523 | 0,2261 | 0,0089 | | |
| Oleato | 8,813 | 366920,9 | 0,2859 | 0,1430 | 0,0056 | | |
| Estearato | 9,157 | 49528 | 0,0360 | 0,0180 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 72 - Resultados da transesterificação da amostra 0,8% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Area | | Fi | ni (mol) | n total (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0230 | 67,71 |
| Miristato | 5,898 | 1522,7 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1588,1 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,182 | 211990 | 0,1503 | 0,0751 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 908235,8 | 0,6138 | 0,3069 | 0,0118 | | |
| Oleato | 8,818 | 488466,4 | 0,3806 | 0,1903 | 0,0072 | | |
| Estearato | 9,158 | 61538,1 | 0,0447 | 0,0224 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 73 - Resultados da transesterificação da amostra 0,8% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0220 | 64,53 |
| Miristato | 5,899 | 1416,8 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1629,8 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,182 | 206307,7 | 0,1462 | 0,0731 | 0,0030 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 887843,1 | 0,6000 | 0,3000 | 0,0113 | | |
| Oleato | 8,818 | 471520,2 | 0,3674 | 0,1837 | 0,0069 | | |
| Estearato | 9,16 | 59250,7 | 0,0430 | 0,0215 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 74 - Resultados da transesterificação da amostra 1% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0234 | 68,50 |
| Miristato | 5,898 | 1535,6 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,985 | 1609,6 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,183 | 214771,5 | 0,1522 | 0,0761 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 969323,6 | 0,6551 | 0,3275 | 0,0123 | | |
| Oleato | 8,819 | 494428,2 | 0,3853 | 0,1926 | 0,0072 | | |
| Estearato | 9,159 | 62546,8 | 0,0454 | 0,0227 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 75 - Resultados da transesterificação da amostra 1% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0235 | 68,74 |
| Miristato | 5,899 | 1495,8 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1560 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,182 | 211343,3 | 0,1498 | 0,0749 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 952334 | 0,6436 | 0,3218 | 0,0123 | | |
| Oleato | 8,82 | 487849,7 | 0,3801 | 0,1901 | 0,0072 | | |
| Estearato | 9,16 | 60972,4 | 0,0443 | 0,0221 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 76 - Resultados da transesterificação da amostra 1,5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Area | ci (mg/ml) | fi | ni (mol) | n total (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0240 | 70,63 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,178 | 214576,2 | 0,1521 | 0,0760 | 0,0030 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,74 | 1032401 | 0,6977 | 0,3488 | 0,0126 | | |
| Oleato | 8,816 | 545472,2 | 0,4250 | 0,2125 | 0,0076 | | |
| Estearato | 9,156 | 63841 | 0,0464 | 0,0232 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 77 - Resultados da transesterificação da amostra 1,5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0252 | 73,95 |
| Miristato | 5,898 | 1597,5 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,183 | 228921,3 | 0,1623 | 0,0811 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,746 | 1084734 | 0,7331 | 0,3665 | 0,0132 | | |
| Oleato | 8,822 | 574419,9 | 0,4476 | 0,2238 | 0,0080 | | |
| Estearato | 9,162 | 66629 | 0,0484 | 0,0242 | 0,0009 | | |

Fonte: Autora

Tabela 78 - Resultados da transesterificação da amostra 2% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0265 | 77,74 |
| Miristato | 5.892 | 1409 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.978 | 1466,5 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.179 | 220820,1 | 0,1565 | 0,0783 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.744 | 1155795 | 0,7811 | 0,3905 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8.82 | 607327,9 | 0,4732 | 0,2366 | 0,0084 | | |
| Estearato | 9.157 | 69640,1 | 0,0506 | 0,0253 | 0,0009 | | |

Fonte: Autora

Tabela 79 - Resultados da transesterificação da amostra 2% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0263 | 77,13 |
| Miristato | 5,897 | 1489,1 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1727,5 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 233265,3 | 0,1653 | 0,0827 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 1170278 | 0,7909 | 0,3954 | 0,0139 | | |
| Oleato | 8,818 | 617705 | 0,4813 | 0,2407 | 0,0084 | | |
| Estearato | 9,156 | 64312,7 | 0,0467 | 0,0234 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 80 - Resultados da transesterificação da amostra 2,5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0254 | 74,56 |
| Miristato | 5.899 | 1436,2 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.987 | 1646,6 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.185 | 223420 | 0,1584 | 0,0792 | 0,0031 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.75 | 1123722 | 0,7594 | 0,3797 | 0,0135 | | |
| Oleato | 8.826 | 581170,4 | 0,4528 | 0,2264 | 0,0080 | | |
| Estearato | 9.163 | 62131,9 | 0,0451 | 0,0226 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 81 - Resultados da transesterificação da amostra 2,5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0262 | 76,65 |
| Miristato | 5.901 | 1530,2 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.989 | 1722,5 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.187 | 233979,2 | 0,1658 | 0,0829 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.751 | 1181467 | 0,7984 | 0,3992 | 0,0143 | | |
| Oleato | 8.824 | 568671,2 | 0,4431 | 0,2216 | 0,0079 | | |
| Estearato | 9.170 | 61426,7 | 0,0446 | 0,0223 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 82 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de enzima

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0256 | 75,22 |
| Miristato | 5.899 | 1371,9 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.985 | 1725,9 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 227522,6 | 0,1613 | 0,0806 | 0,0030 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.751 | 1170688 | 0,7912 | 0,3956 | 0,0136 | | |
| Oleato | 8.827 | 610261,8 | 0,4755 | 0,2378 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9.164 | 64098,3 | 0,0466 | 0,0233 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 83 - Resultados da transesterificação da amostra 3% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0263 | 77,40 |
| Miristato | 5.901 | 1437,3 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.988 | 1800,3 | 0,0013 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 235117,8 | 0,1667 | 0,0833 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.752 | 1189093 | 0,8036 | 0,4018 | 0,0139 | | |
| Oleato | 8.829 | 631051,4 | 0,4917 | 0,2459 | 0,0085 | | |
| Estearato | 9.163 | 62027,5 | 0,0451 | 0,0225 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 84 - Resultados da transesterificação da amostra 3,5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0239 | 70,23 |
| Miristato | 5.9 | 1503,2 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.986 | 1704,3 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 212876,9 | 0,1509 | 0,0754 | 0,0028 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.749 | 1117663 | 0,7553 | 0,3777 | 0,0128 | | |
| Oleato | 8.826 | 575103 | 0,4481 | 0,2241 | 0,0076 | | |
| Estearato | 9.164 | 60014,2 | 0,0436 | 0,0218 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 85 - Resultados da transesterificação da amostra 3,5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0238 | 69,64 |
| Miristato | 5.902 | 1503,2 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.988 | 1754,3 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.187 | 213976,9 | 0,1517 | 0,0758 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.749 | 1117663 | 0,7553 | 0,3777 | 0,0127 | | |
| Oleato | 8.822 | 575103 | 0,4481 | 0,2241 | 0,0075 | | |
| Estearato | 9.163 | 60410,2 | 0,0439 | 0,0219 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 86 - Resultados da transesterificação da amostra 4% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0265 | 77,69 |
| Miristato | 5.899 | 1454,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.985 | 1837,7 | 0,0013 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 238760,5 | 0,1692 | 0,0846 | 0,0031 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.752 | 1280111 | 0,8651 | 0,4325 | 0,0143 | | |
| Oleato | 8.829 | 641069,1 | 0,4995 | 0,2498 | 0,0082 | | |
| Estearato | 9.165 | 68105,6 | 0,0495 | 0,0247 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 87 - Resultados da transesterificação da amostra 4% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0264 | 77,16 |
| Miristato | 5.900 | 1501,2 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.987 | 1744,3 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 253622,1 | 0,1798 | 0,0899 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.750 | 1260483 | 0,8518 | 0,4259 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8.828 | 658144,5 | 0,5128 | 0,2564 | 0,0084 | | |
| Estearato | 9.163 | 69515,4 | 0,0505 | 0,0253 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 88 - Resultados da transesterificação da amostra 4,5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0262 | 76,56 |
| Miristato | 5.899 | 1454,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.985 | 1837,7 | 0,0013 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.184 | 238760,5 | 0,1692 | 0,0846 | 0,0030 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.752 | 1280111 | 0,8651 | 0,4325 | 0,0142 | | |
| Oleato | 8.829 | 641069,1 | 0,4995 | 0,2498 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9.165 | 68105,6 | 0,0495 | 0,0247 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 89 - Resultados da transesterificação da amostra 4,5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0257 | 75,41 |
| Miristato | 5.900 | 1585,2 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.988 | 1709,7 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.185 | 231600,5 | 0,1642 | 0,0821 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.755 | 1280771 | 0,8655 | 0,4328 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8.830 | 641290,1 | 0,4997 | 0,2498 | 0,0080 | | |
| Estearato | 9.164 | 67380,6 | 0,0490 | 0,0245 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 90 - Resultados da transesterificação da amostra 5% de enzima - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0261 | 74,60 |
| Miristato | 5.895 | 1274,2 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.982 | 2087,8 | 0,0015 | 0,0008 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.181 | 239649,7 | 0,1699 | 0,0849 | 0,0030 | | |
| ϒ-Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8.749 | 1279796 | 0,8649 | 0,4324 | 0,0141 | | |
| Oleato | 8.824 | 650636,9 | 0,5070 | 0,2535 | 0,0082 | | |
| Estearato | 9.16 | 69155,8 | 0,0502 | 0,0251 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 91 - Resultados da transesterificação da amostra 5% de enzima - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0258 | 75,89 |
| Miristato | 5.899 | 1317 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6.981 | 2145,4 | 0,0016 | 0,0008 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7.186 | 237753,1 | 0,1685 | 0,0843 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | | - | - | - | | |
| Linolenato | 8.750 | 1286227 | 0,8692 | 0,4346 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8.823 | 651026,1 | 0,5073 | 0,2536 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9.161 | 70134,2 | 0,0510 | 0,0255 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 92 - Resultados obtidos das conversões dos ensaios de quantidade de enzima

| %enzima | 1 | 2 | Media | Desvio padrão |
|---|---|---|---|---|
| 0,3 | 39,82 | 41,13 | 40,47 | 0,926 |
| 0,5 | 54,28 | 52,36 | 53,32 | 1,359 |
| 0,8 | 67,71 | 64,53 | 66,12 | 2,250 |
| 1 | 68,50 | 68,74 | 68,62 | 0,171 |
| 1,5 | 70,63 | 73,95 | 72,29 | 2,346 |
| 2 | 77,74 | 77,13 | 77,44 | 0,431 |
| 2,5 | 74,56 | 76,65 | 75,61 | 1,475 |
| 3 | 75,22 | 77,40 | 76,31 | 1,540 |
| 4 | 77,69 | 77,16 | 77,43 | 0,378 |
| 5 | 74,60 | 75,90 | 75,25 | 0,919 |

Fonte: Autora

# APÊNDICE G – TABELAS DA CONVERSÃO AO LONGO DO TEMPO

Tabela 93 - Dados das amostras da conversão ao longo do tempo

| T (h) | Ensaio | $m_{oleo}$ (g) | $m_e$ (g) | $m_a$ (mg) | $v_a$ (ml) |
|---|---|---|---|---|---|
| 0,5 | 1 | 10,039 | 10,919 | 12,4 | 6,20 |
| | 2 | 10,050 | 10,724 | 13,0 | 6,50 |
| 1 | 1 | 10,013 | 10,873 | 10,3 | 5,15 |
| | 2 | 10,024 | 11,122 | 13,1 | 6,55 |
| 1,5 | 1 | 10,033 | 10,742 | 14,4 | 7,20 |
| | 2 | 10,020 | 12,096 | 13,1 | 6,55 |
| 2 | 1 | 10,014 | 10,684 | 12,2 | 6,10 |
| | 2 | 10,060 | 11,215 | 15,1 | 7,55 |
| 3 | 1 | 10,061 | 10,780 | 12,1 | 6,05 |
| | 2 | 10,058 | 10,705 | 13,9 | 6,95 |
| 4 | 1 | 10,034 | 10,699 | 15,3 | 7,65 |
| | 2 | 10,067 | 10,735 | 13,6 | 6,80 |
| 6 | 1 | 10,036 | 10,960 | 11,1 | 5,55 |
| | 2 | 10,040 | 10,795 | 11,6 | 5,80 |
| 8 | 1 | 10,049 | 10,749 | 17,4 | 8,70 |
| | 2 | 10,070 | 10,893 | 17,0 | 8,50 |
| 10 | 1 | 10,007 | 11,007 | 17,1 | 8,55 |
| | 2 | 10,005 | 10,706 | 17,7 | 8,85 |
| 12 | 1 | 10,058 | 11,657 | 17,2 | 8,60 |
| | 2 | 10,025 | 11,017 | 17,3 | 8,65 |
| 16 | 1 | 10,002 | 10,615 | 17,2 | 8,60 |
| | 2 | 10,052 | 10,509 | 9,0 | 4,50 |
| 20 | 1 | 10,057 | 10,754 | 13,1 | 6,55 |
| | 2 | 10,080 | 10,909 | 13,5 | 6,75 |
| 24 | 1 | 10,034 | 10,684 | 16,0 | 8,00 |
| | 2 | 10,026 | 10,772 | 16,5 | 8,25 |
| 28 | 1 | 10,028 | 10,391 | 16,0 | 8,00 |
| | 2 | 10,015 | 10,653 | 17,5 | 8,75 |
| 32 | 1 | 10,017 | 10,711 | 15,4 | 7,70 |
| | 2 | 10,014 | 10,408 | 15,9 | 7,95 |
| 36 | 1 | 10,068 | 10,417 | 15,1 | 7,55 |
| | 2 | 10,018 | 10,368 | 15,3 | 7,65 |
| 40 | 1 | 10,010 | 10,464 | 18,0 | 9,00 |
| | 2 | 10,057 | 10,573 | 15,8 | 7,90 |
| 44 | 1 | 10,018 | 10,662 | 15,0 | 7,50 |
| | 2 | 10,021 | 10,530 | 15,8 | 7,90 |
| 48 | 1 | 10,006 | 10,329 | 16,7 | 8,35 |
| | 2 | 10,041 | 10,635 | 16,0 | 8,00 |

Fonte: Autora

Tabela 94 - Resultados da transesterificação da amostra de 0,5h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0032 | 9,48 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,174 | 45233,9 | 0,0321 | 0,0160 | 0,0006 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,721 | 117882,1 | 0,0797 | 0,0398 | 0,0015 | | |
| Oleato | 8,801 | 63509,1 | 0,0495 | 0,0247 | 0,0009 | | |
| Estearato | 9,152 | 15355,7 | 0,0112 | 0,0056 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 95 - Resultados da transesterificação da amostra de 0,5h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0032 | 9,26 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,182 | 43503,3 | 0,0308 | 0,0154 | 0,0006 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,729 | 116939,3 | 0,0790 | 0,0395 | 0,0014 | | |
| Oleato | 8,809 | 68274,4 | 0,0532 | 0,0266 | 0,0010 | | |
| Estearato | 9,16 | 11807,3 | 0,0086 | 0,0043 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 96 - Resultados da transesterificação da amostra de 1h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0030 | 8,68 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,182 | 43397,4 | 0,0308 | 0,0154 | 0,0006 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 104769 | 0,0708 | 0,0354 | 0,0013 | | |
| Oleato | 8,81 | 61963,1 | 0,0483 | 0,0241 | 0,0009 | | |
| Estearato | 9,16 | 11181,5 | 0,0081 | 0,0041 | 0,0001 | | |

Fonte: Autora

Tabela 97 - Resultados da transesterificação da amostra de 1h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0031 | 9,22 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,182 | 44484,2 | 0,0315 | 0,0158 | 0,0006 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 109139,1 | 0,0738 | 0,0369 | 0,0014 | | |
| Oleato | 8,807 | 64415,1 | 0,0502 | 0,0251 | 0,0009 | | |
| Estearato | 9,16 | 12070,7 | 0,0088 | 0,0044 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 98 - Resultados da transesterificação da amostra de 1,5h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0034 | 9,97 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,181 | 50664,7 | 0,0359 | 0,0180 | 0,0007 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,727 | 122933,1 | 0,0831 | 0,0415 | 0,0015 | | |
| Oleato | 8,808 | 71002,6 | 0,0553 | 0,0277 | 0,0010 | | |
| Estearato | 9,158 | 13344,2 | 0,0097 | 0,0048 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 99 - Resultados da transesterificação da amostra de 1,5h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0040 | 11,62 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,181 | 51365,2 | 0,0364 | 0,0182 | 0,0008 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 127230,6 | 0,0860 | 0,0430 | 0,0018 | | |
| Oleato | 8,809 | 74453 | 0,0580 | 0,0290 | 0,0012 | | |
| Estearato | 9,16 | 13448,3 | 0,0098 | 0,0049 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 100 - Resultados da transesterificação da amostra de 2h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0034 | 10,00 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,182 | 51360,9 | 0,0364 | 0,0182 | 0,0007 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,727 | 122953,9 | 0,0831 | 0,0415 | 0,0015 | | |
| Oleato | 8,807 | 72046,1 | 0,0561 | 0,0281 | 0,0010 | | |
| Estearato | 9,159 | 13209,9 | 0,0096 | 0,0048 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 101 - Resultados da transesterificação da amostra de 2h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0040 | 11,71 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,181 | 55926,8 | 0,0396 | 0,0198 | 0,0008 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,727 | 139581,6 | 0,0943 | 0,0472 | 0,0018 | | |
| Oleato | 8,808 | 80814,3 | 0,0630 | 0,0315 | 0,0012 | | |
| Estearato | 9,159 | 14654,9 | 0,0106 | 0,0053 | 0,0002 | | |

Fonte: Autora

Tabela 102 - Resultados da transesterificação da amostra de 3h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0054 | 15,86 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,181 | 84821,4 | 0,0601 | 0,0301 | 0,0012 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,73 | 177746,6 | 0,1201 | 0,0601 | 0,0022 | | |
| Oleato | 8,808 | 115976,1 | 0,0904 | 0,0452 | 0,0016 | | |
| Estearato | 9,159 | 29810,4 | 0,0217 | 0,0108 | 0,0004 | | |

Fonte: Autora

Tabela 103 - Resultados da transesterificação da amostra de 3h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0052 | 15,17 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,182 | 76183,4 | 0,0540 | 0,0270 | 0,0011 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 187418,2 | 0,1267 | 0,0633 | 0,0023 | | |
| Oleato | 8,808 | 110797,4 | 0,0863 | 0,0432 | 0,0016 | | |
| Estearato | 9,159 | 20126,9 | 0,0146 | 0,0073 | 0,0003 | | |

Fonte: Autora

Tabela 104 - Resultados da transesterificação da amostra de 4h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0072 | 21,01 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,181 | 104398,2 | 0,0740 | 0,0370 | 0,0015 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,729 | 260103,2 | 0,1758 | 0,0879 | 0,0032 | | |
| Oleato | 8,807 | 153941,1 | 0,1200 | 0,0600 | 0,0022 | | |
| Estearato | 9,157 | 27223,1 | 0,0198 | 0,0099 | 0,0004 | | |

Fonte: Autora

Tabela 105 - Resultados da transesterificação da amostra de 4h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0074 | 21,62 |
| Miristato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,18 | 104303,6 | 0,0739 | 0,0370 | 0,0015 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 270610,6 | 0,1829 | 0,0914 | 0,0033 | | |
| Oleato | 8,808 | 158761,5 | 0,1237 | 0,0619 | 0,0022 | | |
| Estearato | 9,156 | 28061,4 | 0,0204 | 0,0102 | 0,0004 | | |

Fonte: Autora

Tabela 106 - Resultados da transesterificação da amostra de 6h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0107 | 31,30 |
| Miristato | 5,897 | 1017,5 | 0,0007 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,179 | 140338,6 | 0,0995 | 0,0497 | 0,0020 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,728 | 389867,7 | 0,2635 | 0,1317 | 0,0049 | | |
| Oleato | 8,807 | 225575,9 | 0,1758 | 0,0879 | 0,0032 | | |
| Estearato | 9,157 | 38097,5 | 0,0277 | 0,0138 | 0,0005 | | |

Fonte: Autora

Tabela 107 - Resultados da transesterificação da amostra de 6h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0115 | 33,58 |
| Miristato | 5,898 | 1028,7 | 0,0007 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,18 | 146028,4 | 0,1035 | 0,0518 | 0,0021 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,73 | 430272 | 0,2908 | 0,1454 | 0,0053 | | |
| Oleato | 8,808 | 249257,4 | 0,1942 | 0,0971 | 0,0035 | | |
| Estearato | 9,157 | 39999 | 0,0291 | 0,0145 | 0,0005 | | |

Fonte: Autora

Tabela 108 - Resultados da transesterificação da amostra de 8h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0134 | 39,22 |
| Miristato | 5,898 | 1140,6 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,18 | 161280,8 | 0,1143 | 0,0572 | 0,0023 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,734 | 524141,8 | 0,3542 | 0,1771 | 0,0065 | | |
| Oleato | 8,812 | 288798,5 | 0,2250 | 0,1125 | 0,0041 | | |
| Estearato | 9,157 | 44362,6 | 0,0322 | 0,0161 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 109 - Resultados da transesterificação da amostra de 8h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0130 | 37,86 |
| Miristato | 5,897 | 1118,5 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | - | - | - | - | - | | |
| Palmitato | 7,179 | 156801,4 | 0,1111 | 0,0556 | 0,0022 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,731 | 488804,3 | 0,3303 | 0,1652 | 0,0061 | | |
| Oleato | 8,81 | 282191,3 | 0,2199 | 0,1099 | 0,0040 | | |
| Estearato | 9,156 | 43121,3 | 0,0313 | 0,0157 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 110 - Resultados da transesterificação da amostra de 10h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0170 | 49,97 |
| Miristato | 5,898 | 1213,8 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1170,3 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 181512,3 | 0,1287 | 0,0643 | 0,0026 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,735 | 666511,4 | 0,4504 | 0,2252 | 0,0084 | | |
| Oleato | 8,812 | 364946,3 | 0,2844 | 0,1422 | 0,0053 | | |
| Estearato | 9,157 | 49914,3 | 0,0363 | 0,0181 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 111 - Resultados da transesterificação da amostra de 10h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0164 | 48,24 |
| Miristato | 5,898 | 1286,4 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1089,1 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 181296,2 | 0,1285 | 0,0643 | 0,0025 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 659233,7 | 0,4455 | 0,2228 | 0,0081 | | |
| Oleato | 8,814 | 362931,7 | 0,2828 | 0,1414 | 0,0051 | | |
| Estearato | 9,158 | 49180,6 | 0,0357 | 0,0179 | 0,0006 | | |

Fonte: Autora

Tabela 112 - Resultados da transesterificação da amostra de 12h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0191 | 55,81 |
| Miristato | 5,898 | 1233,2 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1180,8 | 0,0009 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 182376,5 | 0,1293 | 0,0646 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,736 | 719968,7 | 0,4866 | 0,2433 | 0,0096 | | |
| Oleato | 8,813 | 388109 | 0,3024 | 0,1512 | 0,0059 | | |
| Estearato | 9,157 | 49572,1 | 0,0360 | 0,0180 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 113 - Resultados da transesterificação da amostra de 12h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0194 | 56,94 |
| Miristato | 5,898 | 1370,7 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,984 | 1272,5 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 198814,3 | 0,1409 | 0,0705 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,739 | 780407,6 | 0,5274 | 0,2637 | 0,0099 | | |
| Oleato | 8,816 | 409670,5 | 0,3192 | 0,1596 | 0,0059 | | |
| Estearato | 9,159 | 53687,9 | 0,0390 | 0,0195 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 114 - Resultados da transesterificação da amostra de 16h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0201 | 59,14 |
| Miristato | 5,897 | 1297,1 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1366,5 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 198445,9 | 0,1407 | 0,0703 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,739 | 863532 | 0,5836 | 0,2918 | 0,0105 | | |
| Oleato | 8,815 | 438357,9 | 0,3416 | 0,1708 | 0,0061 | | |
| Estearato | 9,156 | 54104,6 | 0,0393 | 0,0197 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 115 - Resultados da transesterificação da amostra de 16h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0209 | 61,03 |
| Miristato | 5,896 | 2117,5 | 0,0015 | 0,0007 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 2277,3 | 0,0017 | 0,0008 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 221604,4 | 0,1571 | 0,0785 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,748 | 808158,9 | 0,5462 | 0,2731 | 0,0097 | | |
| Oleato | 8,822 | 518514,5 | 0,4040 | 0,2020 | 0,0072 | | |
| Estearato | 9,158 | 67017,5 | 0,0487 | 0,0243 | 0,0009 | | |

Fonte: Autora

Tabela 116 - Resultados da transesterificação da amostra de 18h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0220 | 63,95 |
| Miristato | 5,896 | 1399,7 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1426,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,178 | 203378,4 | 0,1442 | 0,0721 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 910384,9 | 0,6152 | 0,3076 | 0,0114 | | |
| Oleato | 8,814 | 481610,9 | 0,3753 | 0,1876 | 0,0069 | | |
| Estearato | 9,156 | 55999,6 | 0,0407 | 0,0203 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 117 - Resultados da transesterificação da amostra de 18h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0207 | 60,64 |
| Miristato | 5,897 | 1300 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1578 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 196098,8 | 0,1390 | 0,0695 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 883379,4 | 0,5970 | 0,2985 | 0,0109 | | |
| Oleato | 8,814 | 441820 | 0,3443 | 0,1721 | 0,0063 | | |
| Estearato | 9,156 | 53311,9 | 0,0387 | 0,0194 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 118 - Resultados da transesterificação da amostra de 20h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0217 | 63,47 |
| Miristato | 5,897 | 1479 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1464,3 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 204183,4 | 0,1447 | 0,0724 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,739 | 933165,4 | 0,6306 | 0,3153 | 0,0115 | | |
| Oleato | 8,814 | 463802,5 | 0,3614 | 0,1807 | 0,0066 | | |
| Estearato | 9,154 | 56028,8 | 0,0407 | 0,0204 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 119 - Resultados da transesterificação da amostra de 20h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0218 | 63,54 |
| Miristato | 5,897 | 1324 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1429,1 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 202396,5 | 0,1435 | 0,0717 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,737 | 918714,8 | 0,6209 | 0,3104 | 0,0115 | | |
| Oleato | 8,815 | 462251,8 | 0,3602 | 0,1801 | 0,0066 | | |
| Estearato | 9,157 | 55419,2 | 0,0403 | 0,0201 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 120 - Resultados da transesterificação da amostra de 24h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0219 | 64,02 |
| Miristato | 5,897 | 1363,7 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1485,5 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 203417,2 | 0,1442 | 0,0721 | 0,0028 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,738 | 930843,8 | 0,6291 | 0,3145 | 0,0114 | | |
| Oleato | 8,814 | 487314,3 | 0,3797 | 0,1899 | 0,0068 | | |
| Estearato | 9,155 | 55300,9 | 0,0402 | 0,0201 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 121 - Resultados da transesterificação da amostra de 24h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0228 | 66,69 |
| Miristato | 5,897 | 1332,5 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1594,3 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 214685,6 | 0,1522 | 0,0761 | 0,0030 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,74 | 932016,7 | 0,6299 | 0,3149 | 0,0115 | | |
| Oleato | 8,817 | 520505 | 0,4056 | 0,2028 | 0,0074 | | |
| Estearato | 9,156 | 60511,1 | 0,0440 | 0,0220 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 122 - Resultados da transesterificação da amostra de 28h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0246 | 72,08 |
| Miristato | 5,896 | 1130,5 | 0,0008 | 0,0004 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1470,8 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 232566,5 | 0,1648 | 0,0824 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,75 | 1020013,6 | 0,6893 | 0,3447 | 0,0122 | | |
| Oleato | 8,825 | 619233,6 | 0,4825 | 0,2413 | 0,0085 | | |
| Estearato | 9,158 | 61345 | 0,0446 | 0,0223 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 123 - Resultados da transesterificação da amostra de 28h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0237 | 69,66 |
| Miristato | 5,897 | 1432 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1570,1 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 215091,1 | 0,1525 | 0,0762 | 0,0030 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,741 | 1028264,8 | 0,6949 | 0,3475 | 0,0126 | | |
| Oleato | 8,817 | 525776,7 | 0,4097 | 0,2048 | 0,0074 | | |
| Estearato | 9,157 | 59093,1 | 0,0429 | 0,0215 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 124 - Resultados da transesterificação da amostra de 32h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0245 | 71,74 |
| Miristato | 5,897 | 1412,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1615,6 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 208731,5 | 0,1479 | 0,0740 | 0,0029 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,741 | 1060874,7 | 0,7169 | 0,3585 | 0,0130 | | |
| Oleato | 8,816 | 544712,8 | 0,4244 | 0,2122 | 0,0077 | | |
| Estearato | 9,155 | 59563,9 | 0,0433 | 0,0216 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 125 - Resultados da transesterificação da amostra de 32h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0249 | 73,09 |
| Miristato | 5,898 | 1300,9 | 0,0009 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1604,1 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 219883,8 | 0,1559 | 0,0779 | 0,0030 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,735 | 1173645,8 | 0,7931 | 0,3966 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8,812 | 525975,1 | 0,4098 | 0,2049 | 0,0072 | | |
| Estearato | 9,155 | 51957 | 0,0377 | 0,0189 | 0,0007 | | |

Fonte: Autora

Tabela 126 - Resultados da transesterificação da amostra de 36h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0259 | 75,64 |
| Miristato | 5,897 | 1584,1 | 0,0011 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,981 | 1679,1 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,178 | 230623,4 | 0,1635 | 0,0817 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 1179631,8 | 0,7972 | 0,3986 | 0,0141 | | |
| Oleato | 8,817 | 572926,2 | 0,4464 | 0,2232 | 0,0078 | | |
| Estearato | 9,156 | 61547,8 | 0,0447 | 0,0224 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 127 - Resultados da transesterificação da amostra de 36h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0256 | 75,14 |
| Miristato | 5,897 | 1553,8 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1655 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 230523 | 0,1634 | 0,0817 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 1173173,4 | 0,7928 | 0,3964 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8,817 | 567068,1 | 0,4419 | 0,2209 | 0,0077 | | |
| Estearato | 9,156 | 59991,6 | 0,0436 | 0,0218 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 128 - Resultados da transesterificação da amostra de 40h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0261 | 76,70 |
| Miristato | 5,897 | 1488,4 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1740,9 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,181 | 230258,6 | 0,1632 | 0,0816 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,744 | 1167723 | 0,7891 | 0,3946 | 0,0140 | | |
| Oleato | 8,82 | 588881,8 | 0,4589 | 0,2294 | 0,0081 | | |
| Estearato | 9,157 | 63428 | 0,0461 | 0,0230 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 129 - Resultados da transesterificação da amostra de 40h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0255 | 74,36 |
| Miristato | 5,897 | 1422 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1671,8 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,179 | 224974,1 | 0,1595 | 0,0797 | 0,0031 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,742 | 1108816,3 | 0,7493 | 0,3747 | 0,0135 | | |
| Oleato | 8,817 | 579258 | 0,4514 | 0,2257 | 0,0080 | | |
| Estearato | 9,156 | 61400 | 0,0446 | 0,0223 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 130 - Resultados da transesterificação da amostra de 44h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0268 | 78,54 |
| Miristato | 5,898 | 1481,6 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1751,8 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 228677,3 | 0,1621 | 0,0810 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,744 | 1174567,5 | 0,7938 | 0,3969 | 0,0144 | | |
| Oleato | 8,82 | 595314,8 | 0,4639 | 0,2319 | 0,0083 | | |
| Estearato | 9,157 | 63333,6 | 0,0460 | 0,0230 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 131 - Resultados da transesterificação da amostra de 44h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0268 | 78,69 |
| Miristato | 5,898 | 1501,5 | 0,0011 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,983 | 1732,4 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 230881 | 0,1636 | 0,0818 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 1176646,4 | 0,7952 | 0,3976 | 0,0145 | | |
| Oleato | 8,819 | 584373,9 | 0,4553 | 0,2277 | 0,0082 | | |
| Estearato | 9,156 | 63621,4 | 0,0462 | 0,0231 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 132 - Resultados da transesterificação da amostra de 48h - 1

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0263 | 77,13 |
| Miristato | 5,897 | 1489,1 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1727,5 | 0,0013 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 233265,3 | 0,1653 | 0,0827 | 0,0032 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 1170277,6 | 0,7909 | 0,3954 | 0,0139 | | |
| Oleato | 8,818 | 617705 | 0,4813 | 0,2407 | 0,0084 | | |
| Estearato | 9,156 | 64312,7 | 0,0467 | 0,0234 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 133 - Resultados da transesterificação da amostra de 48h - 2

| Éster metílico | t (min) | Área | $c_{i,a}$ (mg/ml) | $f_i$ | $n_i$ (mol) | $n_{total}$ (mol) | X (%) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Laurato | - | - | - | - | - | 0,0265 | 77,47 |
| Miristato | 5,897 | 1375,2 | 0,0010 | 0,0005 | 0,0000 | | |
| Palmitoleato | 6,982 | 1672 | 0,0012 | 0,0006 | 0,0000 | | |
| Palmitato | 7,18 | 244233,5 | 0,1731 | 0,0866 | 0,0034 | | |
| Linolenato | - | - | - | - | - | | |
| Linoleato | 8,743 | 1105262,4 | 0,7469 | 0,3735 | 0,0135 | | |
| Oleato | 8,818 | 625122,6 | 0,4871 | 0,2435 | 0,0087 | | |
| Estearato | 9,156 | 62023,5 | 0,0451 | 0,0225 | 0,0008 | | |

Fonte: Autora

Tabela 134 - Resultados obtidos do experimento da conversão ao longo do tempo

| T (h) | 1 | 2 | Média | Desvio padrão |
|---|---|---|---|---|
| 0,5 | 9,48 | 9,26 | 9,37 | 0,158 |
| 1 | 8,68 | 9,22 | 8,95 | 0,381 |
| 1,5 | 9,97 | 11,62 | 10,79 | 1,163 |
| 2 | 10,00 | 11,71 | 10,86 | 1,205 |
| 3 | 15,86 | 15,17 | 15,51 | 0,490 |
| 4 | 21,01 | 21,62 | 21,31 | 0,428 |
| 6 | 31,25 | 33,58 | 32,42 | 1,643 |
| 8 | 39,22 | 37,86 | 38,54 | 0,961 |
| 10 | 49,97 | 48,24 | 49,10 | 1,226 |
| 12 | 55,81 | 56,94 | 56,37 | 0,800 |
| 16 | 59,14 | 61,03 | 60,08 | 1,338 |
| 18 | 63,95 | 60,64 | 62,29 | 2,341 |
| 20 | 63,47 | 63,54 | 63,51 | 0,052 |
| 24 | 64,02 | 66,69 | 65,36 | 1,887 |
| 28 | 72,08 | 69,66 | 70,87 | 1,711 |
| 32 | 71,74 | 73,09 | 72,41 | 0,957 |
| 36 | 75,64 | 75,14 | 75,39 | 0,356 |
| 40 | 76,70 | 74,36 | 75,53 | 1,653 |
| 44 | 78,54 | 78,69 | 78,61 | 0,108 |
| 48 | 77,13 | 77,47 | 77,30 | 0,241 |

Fonte: Autora

# APÊNDICE H – TABELAS DO EQUILÍBRIO DE FASES

Tabela 135 – Resultados do equilíbrio de fases para 1:4 v/v óleo/hexano

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0 | 0 | 0 | 0,0460 |
| Hexano | kmol/hr | 0 | 0 | 0,3385 | 0 | 0,3385 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trioleina | kmol/hr | 0 | 0,0034 | 0 | 0 | 0,0034 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0 | 0,0019 | 0 | 0 | 0,0019 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0 | 0,0063 | 0 | 0 | 0,0063 |

Fonte: Autora

Tabela 136 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:1 v/v óleo/hexano

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,046001 | 0 | 0 | 0,0187 | 0,027302 |
| Hexano | kmol/hr | 0 | 0 | 0,082465 | 0,002159 | 0,080306 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trioleina | kmol/hr | 0 | 0,003388 | 0 | 8,85E-08 | 0,003388 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0 | 0,001858 | 0 | 1,40E-07 | 0,001858 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0 | 0,006254 | 0 | 2,24E-07 | 0,006254 |

Fonte: Autora

Tabela 137 - Resultados do equilíbrio de fases para 2:1 v/v óleo/hexano

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,046001 | 0 | 0 | 0,027041 | 0,018961 |
| Hexano | kmol/hr | 0 | 0 | 0,041246 | 0,001942 | 0,039304 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trioleina | kmol/hr | 0 | 0,003388 | 0 | 5,20E-08 | 0,003388 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0 | 0,001858 | 0 | 1,01E-07 | 0,001858 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0 | 0,006254 | 0 | 1,27E-07 | 0,006254 |

Fonte: Autora

Tabela 138 - Resultados do equilíbrio de fases para 4:1 v/v óleo/hexano

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,046001 | 0 | 0 | 0,031051 | 0,01495 |
| Hexano | kmol/hr | 0 | 0 | 0,020513 | 0,001229 | 0,019285 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trioleina | kmol/hr | 0 | 0,003388 | 0 | 2,48E-08 | 0,003388 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0 | 0,001858 | 0 | 5,64E-08 | 0,001858 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0 | 0,006254 | 0 | 6,00E-08 | 0,006254 |

Fonte: Autora

Tabela 139 - Resultados do equilíbrio de fases para 8:1 v/v óleo/hexano

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,046001 | 0 | 0 | 0,032974 | 0,013028 |
| Hexano | kmol/hr | 0 | 0 | 0,010275 | 0,000685 | 0,00959 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| Trioleina | kmol/hr | 0 | 0,003388 | 0 | 1,42E-08 | 0,003388 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0 | 0,001858 | 0 | 3,59E-08 | 0,001858 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0 | 0,006254 | 0 | 3,44E-08 | 0,006254 |

Fonte: Autora

Tabela 140 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:4 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0021 | 0,0439 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,4548 | 0,0231 | 0,4317 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0026 | 0,0007 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0011 | 0,0008 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0053 | 0,0010 |

Fonte: Autora

Tabela 141 - Resultados do equilíbrio de fases para 1:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0069 | 0,0391 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,1150 | 0,0202 | 0,0948 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0033 | 0,0001 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0017 | 0,0001 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0061 | 0,0001 |

Fonte: Autora

Tabela 142 - Resultados do equilíbrio de fases para 2:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0094 | 0,0366 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0570 | 0,0144 | 0,0426 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0018 | 0,0000 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0062 | 0,0000 |

Fonte: Autora

Tabela 143 - Resultados do equilíbrio de fases para 4:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0110 | 0,0350 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0285 | 0,0090 | 0,0195 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0062 | 0,0000 |

Fonte: Autora

Tabela 144 - Resultados do equilíbrio de fases para 8:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0115 | 0,0345 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0143 | 0,0051 | 0,0092 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 |

Fonte: Autora

Tabela 145 - Resultados do equilíbrio de fases para 10:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,0460 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0115 | 0,0345 |
| Hexano | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 | 0,0000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,0000 | 0,0000 | 0,0114 | 0,0042 | 0,0072 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 | 0,0034 | 0,0000 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 | 0,0019 | 0,0000 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 | 0,0063 | 0,0000 |

Fonte: Autora

Tabela 146 - Resultados do equilíbrio de fases para 15:1 v/v óleo/terc-butanol

| | UNIDADE | METANOL | OLEO | SOLVENTE | FASE 1 | FASE 2 |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Metanol | kmol/hr | 0,04600 | 0,00000 | 0,00000 | 0,01149 | 0,03451 |
| Hexano | kmol/hr | 0,00000 | 0,00000 | 0,00000 | 0,00000 | 0,00000 |
| Terc-butanol | kmol/hr | 0,00000 | 0,00000 | 0,00761 | 0,00289 | 0,00472 |
| Trioleina | kmol/hr | 0,00000 | 0,00339 | 0,00000 | 0,00339 | 0,00000 |
| Triopalmitina | kmol/hr | 0,00000 | 0,00186 | 0,00000 | 0,00186 | 0,00000 |
| Trilinoleína | kmol/hr | 0,00000 | 0,00625 | 0,00000 | 0,00625 | 0,00000 |

Fonte: Autora