**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
ESCOLA DE ENGENHARIA DE LORENA**

**Produção de ésteres alquílicos com potencial lubrificante por
transesterificação enzimática do óleo de palmiste e álcoois
superiores**

Lorena-SP

2017

ANNIE ALEXANDRA CERÓN SÁNCHEZ

Produção de ésteres alquílicos com potencial lubrificante por transesterificação enzimática
do óleo de palmiste e álcoois superiores

Tese apresentada à Escola de Engenharia de
Lorena da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências do
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Industrial na área de Microbiologia Aplicada.

Orientadora: Prof. Dra. Heizir Ferreira de Castro

Versão Original

Lorena

2017

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Automatizado
da Escola de Engenharia de Lorena,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Ceron, Annie Alexandra Sanchez

Produção de ésteres alquílicos com potencial
lubrificante por transesterificação enzimática do óleo
de palmiste e álcoois superiores / Annie Alexandra
Sanchez Ceron; orientadora Heizir Ferreira de Castro
- Versão Original. - Lorena, 2017.
152 p.

Tese (Doutorado em Ciências - Programa de Pós
Graduação em Biotecnologia Industrial na Área de
Microbiologia Aplicada) - Escola de Engenharia de
Lorena da Universidade de São Paulo. 2017
Orientadora: Heizir Ferreira de Castro

1. Biolubrificante. 2. Transesterificação
enzimática. 3. Álcoois superiores. 4. Óleo fúsel. 5.
Processo descontínuo e contínuo. I. Título. II. de
Castro, Heizir Ferreira, orient.

Este trabalho é dedicado à minha família: meus pais, Gloria Sánchez e Arturo Cerón, minhas irmãs Carolina e Estefany e minha sobrinha Zarith.

AGRADECIMENTOS

À Prof^a Dr^a. Heizir Ferreira de Castro, pela orientação, para desenvolvimento e finalização deste trabalho. Só tenho de agradecer pela sua excelente orientação, a oportunidade de fazer parte de um grande grupo de pesquisa. Sou muito grata pela amizade, dedicação, conselhos, disponibilidade. Levarei comigo sempre os quatro anos de grande aprendizado, discussão científica, lições de vida, serão de grande exemplo e importância pelo que venha daqui na frente.

Ao Prof. Dr. Pedro Carlos de Oliveira, pela amizade e ajuda. Obrigada pela oportunidade de aprender da sua experiência.

Ao Prof. Dr. Júlio César dos Santos, pelos ensinamentos e a amizade, você é um grande exemplo de vida.

Aos professores da EEL-USP, pela sua colaboração para o desenvolvimento deste trabalho, à Prof^a. Dr^a Jayne e Prof. Dr. Aaron por toda a ajuda com o RMN, as discussões científicas, a química orgânica e as caronas os domingos. Prof. Dr. Biaggio, pelo apoio na síntese dos ésteres via química e a Prof^a. Dr^a Rita pelas aulas de cromatografia e a sua disposição para resolver as minhas dúvidas.

À minha mãe Gloria e meu pai Arturo, meu agradecimento infinito por todo o que sempre fazem por mim, pelo seu exemplo, apoio e esforço. Sem vocês este sonho não poderia ter sido possível.

Às minhas irmãs Carolina e Estefany, pela torcida e apoio sempre.

À minha sobrinha fonte de motivação e de alegria, motor de vida, fonte e maior amor do planeta.

Ao Afonso, obrigada pela companhia, o carinho, por me aguentar, ajudar e fortalecer no meu último ano e meio de doutorado. Agora você também é parte da minha família.

À minha família toda, em especial aos meus avós Stella e Gilberto. E aos que me cuidam desde o céu e que tenho certeza estariam muito orgulhosos de mim Corina e Néstor.

Aos funcionários da Escola de Engenharia de Lorena, que sempre estavam despostos para me colaborar. Especialmente: Bia, Sandra, Cida e André.

A todos os que fizeram ou fazem parte do nosso grupo de trabalho: Larissa Freitas e Patricia Da Rós pela amizade e ajuda sempre. Rodney, Renata, Karine, Carol, Junior, Juan e os inesquecíveis ICs: Pedro, Tomás, Tulio, Kevin, Homero, Caio. E em especial: Weriton, pela amizade, e pela valiosa ajuda. Heitor e Dani, obrigado por estar sempre ao meu lado me apoiando e ajudando com amizade incondicional.

Aos meus amigos colombianos no Brasil, Cata e a torcida colombiana: Lina, Andrés e Diego, obrigada por os momentos de alegria, a vida nos permitiu nascer no mesmo país e também nos juntou longe, fazendo de nós uma pequena família.

Aos amigos que fiz no Brasil, muito obrigada por toda a ajuda, por me acolher e me fazer sentir em casa: Felipe e Maiara, Daiana, Alegría, Milena e Lucas M. e Omar. Em especial: a Sara e Rodrigo, obrigada por tentar sempre fazer minha vida aqui no Brasil mais simples. Rafa Pará, pela amizade de verdade. Carlaile, Braz e Javier pela alegria da amizade sempre.

À Jessica, quem me acolheu desde o meu primeiro dia, que foi minha família aqui no Brasil e que desde o céu, onde eu tenho certeza que você está, fica orgulhosa de mim. Meus agradecimentos por me ensinar a morar no Brasil. Saudade de você sempre.

Aos meus amigos da Colômbia, que mesmo na distância torcem por mim, em especial a Rafa M. (Q.E.P.D).

À Anton Paar Brasil por me permitir usar suas instalações para as análises finais desse trabalho e ao Eng. Evaldo Messias do Carmo Junior.

Agradeço à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa durante todo o período de realização deste doutorado.

A todos os que contribuíram para realização deste trabalho, meus agradecimentos.

RESUMO

CERON, A. A. **Produção de ésteres alquílicos com potencial lubrificante por transesterificação enzimática do óleo de palmiste e álcoois superiores**. 2017. 152 p. Tese (Doutorado em Ciências) Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2017.

Os biolubrificantes têm incrementado progressivamente a sua importância sobre os lubrificantes derivados do petróleo devido às rigorosas regulamentações governamentais, o esgotamento das reservas de petróleo e especialmente pelo alto impacto e efeito tóxico dos óleos petroquímicos no ambiente. Os ésteres de óleos naturais podem ser usados como biolubrificantes e são obtidos por transesterificação dos triacilgliceróis com álcoois superiores. A transesterificação enzimática de óleos com álcoois metílico e etílico é um processo muito estudado para a produção de biodiesel, porém outros ésteres podem ser obtidos a partir de aceptores de acila de tamanho de cadeias carbônicas maiores, tais como os álcoois butílico e isoamílico ou misturas de diversos álcoois como o subproduto resultante destilação do bioetanol (óleo fúsel). Neste contexto, o presente trabalho de tese teve como objetivo a obtenção de ésteres com potencial lubrificante por transesterificação enzimática de óleo de palmiste com álcoois superiores. Os ensaios foram efetuados em regime descontínuo (reator de tanque agitado) e em regime contínuo (reator de leito empacotado) utilizando como biocatalisadores as lipases de *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas fluorescens* imobilizadas em suportes híbridos de SiO₂-βCD e SiO₂-HEC numa temperatura fixa de 45°C. Foram testados os efeitos da razão molar óleo: álcool etílico, butílico, isoamílico e óleo fúsel simulado (mistura de álcoois) (1:4 a 1:12), tempos de reação em batelada (24h a 72h) e tempos espaciais em fluxo contínuo (4 a 14h) na conversão, produtividade e a qualidade dos ésteres. Os resultados mostraram bom desempenho das lipases e conversões totais foram alcançadas. No entanto, foi possível observar o efeito do tamanho da cadeia do aceptor de acila, no excesso requerido e no tempo de reação, obtendo-se os melhores resultados para o processo descontínuo com razões molares de 1:6 e 72h para álcool etílico, 1:6 e 48h para ésteres butílicos, 1:4 e 48h para álcool isomílico e óleo fúsel simulado. No processo contínuo, o melhor desempenho foi determinado para razões molares de 1:8 e tempo espacial de 10h para etanol, 1:6 e 8h para butanol, 1:4 com 6h e 8h para isoamílico e óleo fúsel simulado, respectivamente. Em termos gerais, produtividades mais elevadas foram atingidas em regime de fluxo contínuo e especificamente com álcool de isoamila e óleo fúsel (111,10 e 130,18 mg de éster.gcatalisador⁻¹.h⁻¹). Com relação à qualidade dos produtos obtidos nas reações que forneceram elevadas conversões foi constatado baixos teores de monoacilgliceróis ($\leq 1\%$) e ausência de diacilgliceróis. As viscosidades cinemáticas a 40 °C, confirmaram o elevado grau de transesterificação do óleo de palmiste modificando a viscosidade inicial do óleo de 30,13 mm².s⁻¹ para valores na faixa entre 3 a 6 mm².s⁻¹. O índice de viscosidade variou entre 114 e 150 e a estabilidade oxidativa (período de indução) entre 22 e 37 min (9 e 20 h, método Rancimat). Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios e contribuíram para o estabelecimento de condições reacionais e operacionais para a produção enzimática de ésteres com potencial uso como lubrificantes, tanto em regime descontínuo como contínuo utilizando óleo de palmiste e álcoois e misturas de álcoois superiores.

Palavras chaves: Biolubrificante, Transesterificação enzimática, Álcoois superiores, Óleo fúsel, Processo descontínuo, Processo contínuo.

ABSTRACT

CERON, A. A. **Production of alkyl esters with lubricating potential by enzymatic transesterification of palm kernel oil and higher alcohols**. 2017. 152 p. Thesis (Doctoral of Science) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2018.

Biolubricants have progressively increased their importance on oil-based lubricants due to stringent government regulations, the depletion of oil reserves and especially the high impact and toxic effect of petrochemical oils on the environment. Natural fatty acid alkyl esters can be used as biolubricants and are obtained by transesterification of triacylglycerols with higher alcohols. The enzymatic transesterification of oils with methyl and ethyl alcohols is a much-studied process for the production of biodiesel. However, other esters may be obtained using higher chain acyl acceptors such as butyl and isoamyl alcohols or mixtures thereof as the fusel oil, resulting from the production of bioethanol. In this context, the present thesis aimed to obtain esters with lubricating potential by enzymatic transesterification of palm kernel oil with higher alcohols. Transesterification runs were performed under batch mode (stirred reactor) and continuous flow (packed bed reactor) using as biocatalysts the lipases from *Burkholderia cepacia* and *Pseudomonas fluorescens* immobilized on hybrid matrixes SiO₂-βCD and SiO₂-HEC at 45 °C. The effects of oil to ethyl, butyl, isoamyl alcohol and synthetic fusel oil (1: 4 to 1:12) molar ratios, batch reaction times (24h to 72h) and special times (4 to 14 h) were tested in the conversion, productivity and quality of final esters. The results showed good lipase performance and 100% bulk conversions were achieved. However, it was possible to observe the effect of the acyl acceptor chain on the required excess and on the reaction time, obtaining the best results for batch process with molar ratios of 1: 6 and 72 h for ethyl alcohol, 1: 6 and 48 h for butyl, 1: 4 and 48 h for isoamyl alcohol and synthetic fusel oil. In general terms, better productivities were obtained under continuous flow, particularly with isoamyl alcohol and fusel oil (111.10 and 130.18 mg of ester.g catalyst⁻¹.h⁻¹). Regarding the product quality, low monoacylglycerol contents (≤1%) and absence of diacylglycerols were found in products obtained under the best reaction conditions. The kinematic viscosities at 40 °C confirmed the high degree of transesterification of palm kernel oil by modifying its initial viscosity from 30.13 mm² s⁻¹ to a value in the range of 3 to 6 mm² s⁻¹, the viscosity index between 114 and 150 and an oxidative stability (induction period) between 22 and 37 min (9 and 20 h, Rancimat method). The results obtained were very satisfactory and contributed to the establishment of reactional and operational conditions for the enzymatic production of esters with potential use as lubricants both in discontinuous and continuous flow mode using palm kernel oil and alcohols and mixtures of higher alcohols.

Keywords: Biolubricant, Enzymatic Transesterification, Higher Alcohols, Fusel oil, Discontinuous process, Continuous process.

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1-Exemplo classificação SAE e API, de um óleo lubrificante comercial.....	31
Figura 2.2-Tipos de hidrocarbonetos presentes nos óleos minerais	33
Figura 2.3-Estrutura química de alguns di-ésteres utilizados em lubrificação.....	35
Figura 2.4-Exemplos de ésteres de poliol.....	36
Figura 2.5-Ácidos graxos mono-carboxílicos de origem natural	37
Figura 2.6-Processos e produtos da indústria oleoquímica	43
Figura 2.7-Esquema geral da reação de transesterificação.....	44
Figura 2.8-Etapas da reação de transesterificação de triacilgliceróis	44
Figura 3.1-Sistema usado nas reações em regime descontínuo	60
Figura 3.2-Coluna empacotada com enzima imobilizada	61
Figura 3.3-Sistema usado nas reações em regime contínuo	61
Figura 3.4-Sistema usado para metilação de ácidos graxos	69
Figura 3.5-Síntese química dos padrões cromatográficos de ésteres butílicos e isoamílicos ...	72
Figura 4.1-Esquema geral da metodologia experimental	77
Figura 4.2-Espectro de RMN H^1 (4,5-0,5 ppm) do octanoato de butila obtido a 300Hz com $CDCl_3$	79
Figura 4.3-Espectro de RMN H^1 (4,5-0,5 ppm) do octanoato de isoamila obtido a 300Hz com $CDCl_3$ 79	79
Figura 4.4a-Cromatogramas das injeções dos 4 níveis de concentração dos ésteres de butila, usados para a calibração dos métodos cromatográficos	82
Figura 4.4b-Cromatogramas das injeções dos 4 níveis de concentração dos ésteres de isoamila, usados para a calibração dos métodos cromatográficos.....	83
Figura 4.5-Cromatograma dos ésteres obtidos por metilação do óleo de palmiste	85
Figura 4.6-Influência da razão molar na formação de ésteres de etila utilizando lipase de <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO_2 - β CD	88
Figura 4.7-Perfil de formação dos ésteres na transesterificação do óleo de palmiste com etanol em diferentes razões molares usando lipases <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO_2 - β CD para 24h, 48h e 72h de reação.....	89
Figura 4.8-Qualidade em termos de teor de glicerídeos residuais (MAG e DAG, eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres de etila obtidos em 72 h de reação usando as lipases <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO_2 - β CD. 90	90
Figura 4.9-Influência da razão molar na formação de ésteres de butila utilizando lipase de <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO_2 -HEC.....	93
Figura 4.10-Perfil de formação dos ésteres de butila para cada ácido graxo a partir das reações de transesterificação do óleo de palmiste nas razões molares 1:4, 1:6 e 1:8 catalisadas pelas lipases <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO_2 - HEC para 24h, 48h e 72h	94

Figura 4.11-Qualidade dos ésteres de butila em termos de teor de MAG (eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres de butila ao final de 72 h de reação usando (a) lipase <i>B. cepacia</i> e (b) <i>P. fluorescens</i> para as razões molares de 1:4 e 1:6.....	95
Figura 4.12-Influência da razão molar na formação de ésteres de isoamila utilizando lipase de <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO ₂ -HEC.....	97
Figura 4.13-Perfil de formação dos ésteres de isoamila a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando a lipase <i>B. cepacia</i> (a) e <i>P. fluorescens</i> (b) imobilizadas em SiO ₂ -HEC para 24h, 48h e 72h de reação e diferentes razões molares óleo: álcool	98
Figura 4.14-Qualidade dos ésteres de isoamila em termos de teor de MAG (eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres ao final de 72 h de reação usando (a) lipase <i>B. cepacia</i> e (b) <i>P. fluorescens</i> nas razões molares de 1:4 e 1:6.....	99
Figura 4.15-RMN H ¹ do óleo de palmiste e dos ésteres de etila, butila, isoamila e do óleo fúsel simulado.....	102
Figura 4.16-Sistema experimental usado nos testes operacionais e nas reações de transesterificação em regime contínuo	106
Figura 4.17-Curvas de calibração concentração vs absorbância para as misturas (a) óleo de palmiste: etanol, (b) óleo de palmiste: butanol, (c) óleo de palmiste: álcool isoamílico e (d) óleo de palmiste: óleo fúsel simulado	109
Figura 4.18-Sistema usado para os ensaios de teste traçador e distribuição do corante na coluna empacotada	110
Figura 4.19-Concentrações do corante (1) e DTR (2) no reator de coluna empacotada com lipase imobilizada inativada para as misturas do óleo com álcool: (a) etílico, (b) butílico, (c) isoamílico e (d) óleo fúsel simulado.....	111
Figura 4.20-Conversão do óleo de palmiste em regime contínuo com álcool etílico para diferentes tempos espaciais (●14h, Δ12h, ◇10h, ■8h) catalisada pela lipase <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC e razões molares óleo: álcool 1:6 (a) e 1:8 (b), respectivamente.....	114
Figura 4.21-Perfil de formação dos ésteres etílicos para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando a lipase <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC para a razão molar óleo: álcool de 1:6 nos tempos espaciais estudados (8, 10, 12 e 14h) e para razão molar de 1:8 (8, 10 e 12h)	116
Figura 4.22-Correlação das conversões e produtividades obtidas em função do tempo espacial para as reações de transesterificação conduzidas com razões molares óleo: álcool etílico de 1:6 (a) e 1:8 (b), usando lipases de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC.....	117
Figura 4.23-Conversão do óleo de palmiste em ésteres de butila para diferentes tempos espaciais (●10h, Δ8h, ■6h) catalisada pela lipase <i>B. cepacia</i> imobilizada e razões molares óleo: butanol 1:6 (a) e 1:8 (b), respectivamente	119
Figura 4.24-Perfil de formação dos ésteres butílicos para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando lipases <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC para RM óleo: álcool de 1:6 e 1:8 nos tempos espaciais estudados (10, 8 e 6 h)	120
Figura 4.25-Produtividades obtidas em função do tempo espacial para RM óleo: álcool butílico de 1:6 (a) e 1:8 (b), usando lipases de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC.....	121
Figura 4.26-Conversão do óleo de palmiste em ésteres isoamílicos para diferentes tempos espaciais (■4h, Δ6h e ●8h) catalisada pela lipase <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC e razões molares óleo: álcool 1:4 (a) e 1:6(b), respectivamente	123

Figura 4.27-Perfil de formação dos ésteres de isoamila para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste em regime contínuo usando lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ - HEC para as razões molares óleo: álcool de 1:4 e 1:6 nos tempos espaciais estudados (4, 6 e 8 h).	125
Figura 4.28-Produtividades obtidas em função do tempo espacial para RM óleo: álcool isoamílico de 1:4 (a) e 1:6 (b), usando lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ - HEC. 126	126
Figura 4.29-Teste de estabilidade oxidativa por tempo de indução RapidOxy.....	133
Figura 4.30-Correlação do método RapidOxy com o método Cd12b_92_13 a 100°C (Rancimat)	133

LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1-Organizações que regulam as especificações dos lubrificantes	27
Quadro 2.2-Características dos óleos lubrificantes	27
Quadro 2.3-Características das gorduras lubrificantes	27
Quadro 2.4-Classificação de desempenho API dos óleos lubrificantes para motores de combustão interna.....	30
Quadro 2.5-Classificação de desempenho API dos óleos lubrificantes para motores de combustão espontânea (diesel)	30
Quadro 2.6-Classificação GL de desempenho API dos óleos lubrificantes de engrenagens	31
Quadro 2.7-Aplicações industriais de alguns óleos vegetais.....	38
Quadro 2.8-Resumo de alguns trabalhos desenvolvidos por vários autores em caracterização de biolubrificantes a base de óleos vegetais com relação aos lubrificantes comerciais	41
Quadro 2.9-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando diferentes álcoois	46
Quadro 2.10-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando regime contínuo.....	56
Quadro 3.1-Outros reagentes usados no desenvolvimento da metodologia experimental ..	59
Quadro 3.2-Principais equipamentos utilizados	62
Quadro 3.3-Outros equipamentos usados	62
Quadro 3.4-Condições de operação do método de dosagem de ésteres etílicos.....	70
Quadro 4.1-Ésteres sintetizados por via química	78
Quadro 4.2-Análise dos espectros obtidos por RMN H^1 300 MHz, Chloroform-d para os padrões de ésteres butílicos	80
Quadro 4.3-Análise dos espectros obtidos por RMN H^1 300 MHz, Chloroform-d para os padrões de ésteres isoamílicos	80
Quadro 4.4-Condições de operação do cromatógrafo e parâmetros dos métodos de quantificação dos ésteres butílicos e isoamílicos	81

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1-Classificação de viscosidade para óleos de motor SAE J-300 (janeiro 2015)	29
Tabela 2.2-Classificação de viscosidade para óleos de transmissão SAE J-306	29
Tabela 2.3-Classificação API dos óleos básicos	29
Tabela 2.4-Classificação ISO dos óleos lubrificantes industriais	32
Tabela 2.5-Classificação dos óleos minerais segundo sua composição	33
Tabela 2.6-Propriedades físicas de diferentes tipos de ésteres lubrificantes	36
Tabela 2.7-Composição em ácidos graxos monocarboxílicos de alguns óleos vegetais	37
Tabela 2.8-Propriedades físicas de alguns óleos vegetais	38
Tabela 2.9-Propriedades físicas e composição do óleo fúsel	49
Tabela 3.1-Características físico-químicas do óleo de palmiste refinado	58
Tabela 3.2-Álcoois, razões molares e biocatalisadores testados nas reações de transesterificação de óleo de palmiste em regime descontínuo	66
Tabela 3.3-Condições de reação testados em regime contínuo	67
Tabela 4.1-Concentrações preparadas dos ésteres para construção da curva de calibração para ésteres de butila e isoamila	82
Tabela 4.2-Testes de validação dos métodos cromatográficos para dosagem dos ésteres de butila e isoamila.....	83
Tabela 4.3-Propriedades do óleo de palmiste	84
Tabela 4.4-Composição em ácidos graxos do óleo de palmiste	85
Tabela 4.5-Principais propriedades dos suportes híbridos SiO ₂ -βCD e SiO ₂ -HEC	86
Tabela 4.6-Razões molares testadas nos ensaios realizados usando etanol e as lipases de <i>B. cepacia</i> e <i>P. fluorescens</i> imobilizadas em SiO ₂ -βCD	87
Tabela 4.7-Desempenho das lipases de <i>B. cepacia</i> e <i>P. fluorescens</i> imobilizadas em SiO ₂ -βCD na transesterificação do óleo de palmiste com etanol utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo: etanol (72h de reação)	91
Tabela 4.8-Desempenho das lipases de <i>B. cepacia</i> e <i>P. fluorescens</i> imobilizadas em SiO ₂ -HEC, na transesterificação do óleo de palmiste com butanol utilizando diferentes razões molares (RM) do óleo e butanol para 72h de reação	96
Tabela 4.9-Desempenho das lipases de <i>B. cepacia</i> e <i>P. fluorescens</i> imobilizadas em SiO ₂ -HEC, na transesterificação do óleo de palmiste e álcool isoamílico em regime descontínuo, utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo e álcool para 72h de reação.	100

Tabela 4.10-Desempenho das lipases de <i>B. cepacia</i> e <i>P. fluorescens</i> imobilizadas em SiO ₂ -HEC, na transesterificação do óleo de palmiste com óleo fúsel simulado em regime descontínuo, utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo de palmiste e óleo fúsel simulado após 48 h de reação.	103
Tabela 4.11-Resumo do teor de glicerol para os teores de éster obtidos com cada álcool testado após 72h de reação em regime descontínuo	105
Tabela 4.12-Razões molares e tempos espaciais testados nos ensaios conduzidos em fluxo contínuo	107
Tabela 4.13-Calibração da bomba peristáltica	108
Tabela 4.14-Parâmetros de caracterização do reator de coluna empacotada	112
Tabela 4.15-Desempenho da lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC na transesterificação do óleo de palmiste com etanol em regime contínuo utilizando razões molares (RM) de óleo e etanol de 1:6 e 1:8 para tempos espaciais de 8, 10, 12 e 14h.....	118
Tabela 4.16-Desempenho da lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC na transesterificação do óleo de palmiste com butanol utilizando razões molares (RM) de óleo e butanol de 1:6 e 1:8 para tempos espaciais de 8, 10 e 12 h	122
Tabela 4.17-Desempenho da lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC na transesterificação do óleo de palmiste, utilizando razões molares (RM) de óleo e álcool isoamílico de 1:4 e 1:6 para tempos espaciais de 4,6 e 8 h	127
Tabela 4.18-Desempenho da lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -HEC, na transesterificação do óleo de palmiste, utilizando razões molares (RM) de óleo de palmiste e óleo fúsel simulado de 1:4 e 1:6 para tempos espaciais de 4, 6 e 8 h.....	128
Tabela 4.19-Tempo de meia-vida dos biocatalisadores usados nas reações de transesterificação em regime contínuo	129
Tabela 4.20-Viscosidades 100°C e índice de viscosidade (IV) dos ésteres obtidos nas reações de transesterificação do óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado	132
Tabela 4.21-Resultados dos períodos de indução e estabilidade oxidativa do óleo de palmiste e dos ésteres obtidos por transesterificação para os métodos RapidOxy e Rancimat.....	134

LISTA DE ABREVIACÕES

AGMA	American Gears Manufacturers Association
ANP	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
API	American Petroleum Institute
ASTM	American Society for Testing and Materials
CLAE	Cromatografia líquida de alto desempenho
CSTR	Reatores de tanque agitado
DAGs	Diacilgliceróis
DTR	Distribuição do Tempo de Residência
FAEE	Fatty acid etil esters
GL	Gear Lubricants- Lubrificantes de Engrenagens
ISO	International Standards Organization
IV	Índice de viscosidade
kd	Constante de desativação
MAGs	Monoacilgliceróis
PAOs	Polialfaolefinas
PBR	Reatores de leito fixo (Plug bed reactor)
PFR	Reatores de leito fluidizado (Plug flow reactor)
PVA	Álcool polivinílico
RM	Razão molar
SAE	Society of Automotive Engineers
SiO₂-βCD	Polissiloxano-β-ciclodextrina
SiO₂-HEC	Polissiloxano-Hidroxietilcelulose
SSU	Saybolt Seconds Universal
TAGs	Triacilgliceróis
t_m	Tempo médio de residência
t_{1/2}	Tempo de meia-vida
τ	Tempo espacial

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	21
1.1 Objetivo geral.....	23
1.2 Objetivos específicos.....	23
2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA	24
2.1 Lubrificantes	24
2.1.1 Propriedades químicas e físicas	24
<i>2.1.1.1 Viscosidade cinemática</i>	<i>24</i>
<i>2.1.1.2 Índice de viscosidade</i>	<i>25</i>
<i>2.1.1.3 Estabilidade oxidativa.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.1.4 Ponto de fluidez.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.1.5 Ponto de névoa</i>	<i>25</i>
<i>2.1.1.6 Ponto de entupimento.....</i>	<i>25</i>
<i>2.1.1.7 Estabilidade térmica</i>	<i>26</i>
<i>2.1.1.8 Corrosividade.....</i>	<i>26</i>
<i>2.1.1.9 Ponto de fulgor</i>	<i>26</i>
<i>2.1.1.10 Toxicidade.....</i>	<i>26</i>
<i>2.1.1.11 Biodegradabilidade.....</i>	<i>26</i>
2.1.2 Regulamentação lubrificantes	26
2.1.3 Classificação dos lubrificantes.....	28
<i>2.1.3.1 Classificação dos lubrificantes segundo órgãos internacionais</i>	<i>28</i>
<i>2.1.3.2 Classificação em função da fonte.....</i>	<i>32</i>
2.2 Biolubrificantes	40
2.2.1 Modificações químicas de óleos e gorduras para a obtenção de ésteres lubrificantes.....	42
2.2.2 Transesterificação para a obtenção de ésteres biolubrificantes	43
<i>2.2.2.1 Transesterificação enzimática.....</i>	<i>51</i>

2.2.3 Biorreatores usados na produção de ésteres por transesterificação de óleos vegetais.	54
3 MATERIAIS E MÉTODOS	58
3.1 Matérias-primas	58
3.2 Biocatalisadores	58
3.3 Outros reagentes	58
3.4 Equipamentos	60
3.4.1 Sistemas reacionais	60
3.4.1.1 Biorreator de tanque agitado	60
3.4.1.2 Biorreator de leito fixo	60
3.5 Metodologia Experimental	63
3.5.1 Síntese dos suportes híbridos e imobilização das lipases	63
3.5.2 Parâmetros operacionais do sistema contínuo	64
3.5.2.1 Calibração da bomba peristáltica	64
3.5.2.2 Distribuição do tempo de residência (DTR)	64
3.5.3 Síntese dos ésteres biolubrificantes em regime descontínuo e contínuo	66
3.5.4 Purificação dos produtos da reação	67
3.5.5 Métodos de análise	68
3.5.5.1 Densidade da enzima imobilizada	68
3.5.5.2 Teor de umidade das enzimas imobilizadas	68
3.5.5.3 Determinação da atividade hidrolítica	68
3.5.5.4 Teor de ácidos graxos do óleo de palmiste	69
3.5.5.5 Quantificação dos ésteres	70
3.5.5.6 Síntese dos padrões de ésteres butílicos e isoamílicos	70
3.5.5.7 Implementação dos métodos para quantificação de ésteres butílicos e isoamílicos	71
3.5.5.8 Índice de acidez e quantificação de ácidos graxos livres	73
3.5.5.9 Teor de água	73
3.5.5.10 Caracterização dos monoésteres de ácidos graxos por RMN ¹ H	73

3.5.5.11 Quantificação de mono e diacilgliceróis	74
3.5.5.12 Viscosidade cinemática	74
3.5.5.13 Densidade.....	74
3.5.5.14 Índice de viscosidade (IV).....	74
3.5.5.15 Estabilidade oxidativa (EO)	75
3.6 Cálculos	75
3.6.1 Tempo espacial (τ)	75
3.6.2 Produtividade	75
3.6.3 Tempo de meia-vida da enzima imobilizada.....	76
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	77
4.1 Estabelecimento dos métodos de quantificação dos ésteres butílicos e isoamílicos	78
4.1.1 Síntese dos padrões de ésteres butílicos e isoamílicos.....	78
4.1.1.1 Caracterização dos ésteres padrões por RMN H^1	78
4.1.2 Métodos cromatográficos para quantificação dos ésteres de butílicos e isoamílicos ...	81
4.2 Caracterização do óleo de palmiste.....	84
4.2.1 Teor de ácidos graxos do óleo de palmiste.....	84
4.3 Características dos suportes sintetizados	85
4.4 Síntese dos ésteres biolubrificantes em regime descontínuo.....	86
4.4.1 Síntese de ésteres de etila em regime descontínuo.....	86
4.4.2 Síntese de ésteres de butila em regime descontínuo.....	92
4.4.3 Síntese de ésteres de isoamila em regime descontínuo	97
4.4.4 Síntese de ésteres usando óleo fúsel simulado em regime descontínuo.....	101
4.4.5 Análise global na transesterificação em regime descontínuo do óleo de palmiste e os álcoois etanol, butanol, isoamílico e óleo fúsel simulado	104
4.5 Parâmetros operacionais do reator de leito fixo	105
4.5.1 Densidade da enzima imobilizada	107
4.5.2 Calibração da bomba peristáltica.....	107
4.5.3 Distribuição do tempo de residência (DTR).....	108

4.5.3.1 Curva de calibração.....	108
4.5.3.2 Cálculo da Distribuição do Tempo de Residência (DTR).....	109
4.6 Síntese dos ésteres lubrificantes em regime contínuo.....	113
4.6.1 Síntese de ésteres de etila em regime contínuo.....	113
4.6.2 Síntese de ésteres butílicos em regime contínuo	119
4.6.3 Síntese de ésteres isoamílicos em regime contínuo.....	123
4.6.4 Síntese de ésteres usando óleo fúsel simulado em regime contínuo.....	128
4.7 Tempo de meia-vida da enzima imobilizada.....	129
4.8 Análise global dos resultados obtidos na transesterificação em regime contínuo do óleo de palmiste e os álcoois etanol, butanol, isoamílico e óleo fúsel simulado	130
4.9 Índice de acidez e quantificação de ácidos graxos livres e teor de água.....	130
4.10 Índice de viscosidade (IV)	131
4.11 Estabilidade oxidativa (EO).....	132
5 CONCLUSÕES.....	135
SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	137
REFERÊNCIAS	138
APÊNDICES	146

1 INTRODUÇÃO

O objetivo de múltiplas pesquisas ao redor do mundo tem tentado melhorar a compatibilidade ambiental, a confiabilidade e a eficiência energética dos processos relacionados ao setor automotivo (SINGH et al., 2017). O avanço em soluções tecnológicas como o uso de materiais de origem natural, a redução das emissões gasosas dos produtos de combustão e em geral as alternativas para a substituição dos produtos provenientes da indústria petroquímica, são algumas das soluções sugeridas para a diminuição dos problemas ambientais gerados por veículos e máquinas.

Entre os principais processos na indústria com respeito a automotores e equipamentos está a lubrificação que é uma técnica usada para reduzir o atrito entre duas superfícies que se encontram muito próximo e em movimento, interpondo uma substância lubrificante. Os principais propósitos da lubrificação são reduzir o desgaste e prevenir a perda de calor resultante do contato das superfícies em movimento, proteger da corrosão e reduzir a oxidação, vedar para evitar a entrada de poeira, sujeira e água (PANCHAL et al., 2017).

Os produtos mais amplamente usados como lubrificantes na indústria automotiva são os óleo e graxas lubrificantes compostos em maior parte pela fração do petróleo cru, embora, possuam muitas propriedades físicas úteis, são tóxicos, poluentes e não biodegradáveis (HEIKAL et al., 2017).

Em 2004, 37.4 milhões de toneladas de lubrificantes foram consumidos, sendo a maior contribuição dos lubrificantes automotivos com 53%, lubrificantes industriais com 32%, óleos de processamento 10% e óleos marinhos 5%. Em 2007, o consumo aumentou para 41.8 milhões de toneladas de lubrificantes e a demanda mundial tem continuado aumentar em 2,0% por ano, sendo previsto alcançar 45.4 milhões de toneladas em 2019 (SINGH et al., 2017).

Em consequência ao progressivo esgotamento das reservas e o aumento dos preços do petróleo, a elevada deterioração ambiental e ao aumento no consumo, outras opções aos lubrificantes fósseis têm sido consideradas, como é o desenvolvimento e uso de lubrificantes derivados de óleos vegetais, denominados biolubrificantes (RUGGIERO et al., 2016).

Os biocombustíveis têm sido aceitos no mundo inteiro devido a suas vantagens em relação aos combustíveis petroquímicos, similar comportamento é esperado para os biolubrificantes, que podem ser considerados como uma alternativa aos óleos minerais

devido às suas propriedades de lubrificação natural e biodegradabilidade, assim como maior ponto de inflamação, menor volatilidade e maior índice de viscosidade. Por exemplo, o índice de viscosidade para o óleo vegetal não comestível é de aproximadamente 220 e, para a maioria dos óleos minerais, está na faixa de 90-100 (SINGH et al., 2017).

A presença de ácidos graxos de cadeia longa e grupos polares na estrutura dos óleos vegetais os tornam adequados para serem usados como lubrificantes. Existem várias matérias-primas sustentáveis para a produção de biolubrificantes e ao redor do mundo 350 oleaginosas estão disponíveis. Assim a modificação de óleos não comestíveis se converte em uma possibilidade que garante a sustentabilidade dos processos de produção de biolubrificantes (NO, 2011).

Em compensação as vantagens dos óleos vegetais como biolubrificantes, podem-se considerar aspectos negativos como a baixa estabilidade oxidativa dos óleos na sua forma original na presença de ácidos graxos poli-insaturados e os problemas de fluidez a baixas temperaturas devido ao excesso de ácidos graxos saturados de cadeia longa (SINGH et al., 2017).

A baixa estabilidade oxidativa tem sido melhorada parcialmente mediante o uso de aditivos antioxidantes. Outras características como a estreita faixa de viscosidades, dos óleos vegetais têm que ser modificadas com a adição de substâncias como oleogels e outros copolímeros. Outra alternativa para melhorar o desempenho dos óleos vegetais como lubrificantes tem sido estudada e é a modificação química usando reações como a epoxidação, hidrólise, transesterificação, etc (WU et al., 2013).

A transesterificação é uma reação de um triacilglicerol com um álcool na presença de um catalisador produzindo uma mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos e glicerol. A reação pode ser catalisada por uma base, ácido ou enzima gerando como produto final ésteres alquílicos derivados de óleos vegetais que podem ser usados como agentes lubrificantes. A estequiometria da reação requer 1 mol de triacilglicerol e 3 moles de álcool de cadeia longa, para o caso dos biolubrificantes, no entanto, excesso do álcool é normalmente usado. Fatores como a razão molar de óleo e álcool, temperatura de reação, tipo e concentração de catalisador, teor de ácidos graxos livres têm que ser considerados (PANCHAL et al., 2017).

O estudo e a otimização dos parâmetros que influenciam as reações de transesterificação, têm sido conduzidos em sua maioria, em batelada. No entanto, para ampliar a produção, alguma pesquisas têm utilizado sistemas em regime de fluxo contínuo, sendo objeto de análise a otimização de outros parâmetros como a transferência de massa,

tempo de residência e a produtividade (LIKOZAR; POHAR; LEVEC, 2016). A maior parte destes estudos têm sido realizados para a produção de biodiesel, grande parte usando álcoois metílico e etílico, para o caso específico dos biolubrificantes os dados são escassos na literatura.

No presente trabalho foi proposto estabelecer as condições de síntese de ésteres lubrificantes por transesterificação enzimática do óleo de palmiste com diferentes álcoois (etílico, butílico, isoamílico e fúsel simulado, mistura dos principais álcoois presentes no óleo fúsel). As reações foram conduzidas em sistema descontínuo e contínuo, analisando a influência do tamanho da cadeia carbônica do álcool, bem como a razão molar entre os materiais de partida na conversão do óleo, produtividade e qualidade do produto formado. As enzimas selecionadas foram as lipases microbianas *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas fluorescens* devido ao bom desempenho demonstrado por estas enzimas em trabalhos desenvolvidos anteriormente. Especial atenção foi dada a qualificação dos produtos gerados de acordo com as normas vigentes.

O principal aporte deste trabalho foi explorar a possibilidade da produção de ésteres lubrificantes, estabelecendo as condições para o uso de diferentes fontes de álcool mais econômicas como é o caso do óleo fúsel, em processos de transesterificação enzimática em regime contínuo com altas produtividades aproveitando as múltiplas vantagens dos processos biotecnológicos.

1.1 Objetivo geral

O presente trabalho tem por objetivo realizar o estudo experimental da produção enzimática em regime descontínuo e contínuo, de ésteres alquílicos com potencial de ser usados como biolubrificantes, por meio de transesterificação enzimática de óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e mistura dos álcoois (óleo fúsel simulado) como aceptores de acila.

1.2 Objetivos específicos

1. Selecionar a enzima imobilizada mais efetiva na síntese de ésteres lubrificantes nas reações de transesterificação conduzidas em regime descontínuo
2. Sintetizar ésteres a partir da reação de óleo de palma e álcoois etílico, butílico, isoamílico e óleo fúsel simulado em regime contínuo usando a lipase selecionada

3. Caracterizar os ésteres alquílicos obtidos nas reações em regime descontínuo e contínuo.

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

Nesta revisão bibliografia serão tratados os principais temas relacionados com a produção de biolubrificantes, matérias-primas, processos entre outros para compreensão do trabalho proposto.

2.1 Lubrificantes

Os lubrificantes são substâncias aplicadas em superfícies de rolamento, deslizamento ou contato para reduzir o atrito entre as partes móveis. Na prática, os lubrificantes são usados para diminuir o atrito e o desgaste, para dissipar o calor, facilitar a lavagem aumentando a dispersão das impurezas e minimizar a corrosão ocasionada pela água e ácidos residuais (LANSDOWN, 2007). Os óleos podem ser usados para estas funções e são denominados óleos lubrificantes.

Os óleos lubrificantes são formados por um óleo base, que pode ser a mistura de dois ou mais compostos e aditivos que irão fornecer as características finais desejáveis ao produto. Os óleos base são os constituintes de maior proporção na formulação dos óleos lubrificantes, e são obtidos, em geral, por meio do processamento do petróleo (SOCCOL; FRANÇA; REZENDE, 2016).

2.1.1 Propriedades químicas e físicas

As características das bases lubrificantes são fundamentais nas diferentes aplicações, entre as importantes estão as seguintes:

2.1.1.1 Viscosidade cinemática

É uma medida que indica a resistência de um determinado líquido ao escoamento e é a propriedade mais importante, porque define o uso final como lubrificante de motor, engrenagem, etc. É medida em centistokes (cSt), numa determinada temperatura, geralmente 40 e 100 °C. As bases podem ser nomeadas pela sua viscosidade, por exemplo, uma base grau ISO 32 (International Standards Organization) significa que um óleo tem uma viscosidade de 32 cSt (a 100 °C). Porém, a nomenclatura mais usada comercialmente é a viscosidade Saybolt. Assim uma base que tem uma viscosidade 150 SSU (Saybolt Seconds Universal) a 40 °C equivale a ISO 32 (SHARMA; STIPANOVIC, 2003).

2.1.1.2 Índice de viscosidade

Indica a capacidade de um lubrificante de manter constante sua viscosidade em uma ampla faixa temperatura. Este parâmetro é determinado a partir de valores da viscosidade a 40 e 100 °C e é uma medida arbitrária de forma que a viscosidade varia com a temperatura e é determinada por comparação com um padrão. Um índice elevado indica que a variação da viscosidade com a temperatura é pequena, enquanto um índice baixo indica que a mudança da viscosidade é sensível à variação da temperatura. O valor desejável do índice é o mais alto possível, o que significa que a lubrificação é relativamente similar em todas as temperaturas (SHARMA; STIPANOVIC, 2003).

2.1.1.3 Estabilidade oxidativa

A oxidação é um processo degradativo que ocorre quando o oxigênio atmosférico ou aquele que está dissolvido no óleo reage com ácidos graxos insaturados presentes. As reações químicas envolvidas no processo de oxidação dos óleos são muito complexas e geram, em seus estágios mais avançados, produtos sensorialmente inaceitáveis (LANSDOWN, 2007).

2.1.1.4 Ponto de fluidez

Menor temperatura na qual o óleo lubrificante flui quando sujeito a resfriamento sob condições determinadas do teste. É principalmente controlado para avaliar o desempenho nas condições de uso em que o óleo é submetido a baixas temperaturas ou em climas frios.

2.1.1.5 Ponto de névoa

Definido como a menor temperatura em que se observa a formação de uma turvação numa amostra do produto, indicando o início da cristalização de parafinas e outras substâncias de comportamento semelhante que estão presentes e tendem a separar-se do lubrificante, quando este é submetido a baixas temperaturas de resfriamento contínuo.

2.1.1.6 Ponto de entupimento

É usado para avaliar o desempenho nas condições de uso em que o óleo é submetido a baixas temperaturas ou em climas frios. O teste consiste no resfriamento do combustível até uma temperatura em que ele cesse de correr através do filtro dentro de 60 segundos ou pelo fato de não retornar ao frasco de teste.

2.1.1.7 Estabilidade térmica

Na necessidade de aquecer o óleo durante seu uso, é importante que o mesmo não se degrade produzindo perda das propriedades lubrificantes.

2.1.1.8 Corrosividade

É um tipo particular de incompatibilidade, na qual o óleo ataca o metal.

2.1.1.9 Ponto de fulgor

Temperatura a partir da qual uma substância inflama se aplicada uma chama por um período de pelo menos 5 segundos. Este valor limita a temperatura na qual o óleo pode estar exposto. Quanto mais pesado é o óleo maior será sua temperatura de inflamação. Para os óleos mais leves essa temperatura está em torno a 105 °C.

2.1.1.10 Toxicidade

O óleo não deve causar dano a saúde dos seres vivos nem ao meio ambiente.

2.1.1.11 Biodegradabilidade

Transformação dos materiais que entram no ambiente por ação de organismos vivos (ou suas enzimas) no ambiente. Os organismos incluem bactérias, leveduras, protozoários e fungos, que destroem moléculas, tipicamente produzindo dióxido de carbono e água. Certas estruturas químicas são mais suscetíveis a ruptura microbiana do que outros; óleos vegetais e os ésteres sintéticos, por exemplo, em geral, serão biodegradados mais rapidamente do que os óleos minerais nas mesmas condições.

2.1.2 Regulamentação lubrificantes

Os óleos e gorduras lubrificantes automotriz e industriais devem atender as especificações internacionais vigentes e as adicionais declaradas pelo fabricante. No Quadro 2.1 são descritas as organizações que definem as especificações, métodos de ensaios, análises e condições dos lubrificantes em geral.

Quadro 2.1-Organizações que regulam as especificações dos lubrificantes

Organização	Siglas	Define
Associação Europeia de fabricantes automotivo	ACEA	Nível de qualidade dos lubrificantes
American Society for Testing and Materials	ASTM	Métodos de ensaio
American Petroleum Institute	API	Nível de qualidade dos lubrificantes
Deutsche Industrie Norm	DIN	Métodos de ensaio e normas
Institute of Petroleum	IP	Método de ensaio
International Organization for Standardization	ISO	Sistema de classificação, viscosidade dos lubrificantes líquidos industriais.
National Lubricating Grease Institute	NLGI	Classificação de gorduras lubrificantes
Society of Automotive Engineers	SAE	Sistema de classificação de viscosidade dos lubrificantes de motor e engrenagem

Fonte: (BOOSER, 1983)

Algumas características dos lubrificantes são regulamentadas segundo seu uso como se apresenta nos Quadros 2.2 e 2.3:

Quadro 2.2-Características dos óleos lubrificantes

Ensaio	Método	Especificações
Aspecto	Visual	Informar
Color	ASTM D-1500	Informar
Viscosidade a 100°C	ASTM D-445	SAE J-300 SAE J-306C
Viscosidade a 40°C	ASTM D-445	SAE J-300 ISO 3448
Índice de viscosidade	ASTM D-2270	Informar
Densidade a 15/4°C ou 20/4°C	ASTM D-1298	Comparar com resultados de origem
TBN	ASTM D-2896 ou ASTM D-5984	Comparar com resultados de origem
Aditivos metálicos *	Informar o método	Informar presença ou ausência
Ponto de inflamação	ASTM D-93	Informar

*De acordo com tipo de lubrificante, cálcio, zinco, fósforo ou outros.

Fonte:(BOOSER, 1983)

Quadro 2.3-Características das gorduras lubrificantes

Ensaio	Método	Especificação
Aspecto	Visual	Informar
Color	Visual	Informar
Consistência	ASTM D-217 ou ASTM D-1403	Número NLGI
Ponto de gotejo	ASTM D-566 ou ASTM D-2265	Informar

Fonte:(BOOSER, 1983)

2.1.3 Classificação dos lubrificantes

Os lubrificantes podem ser classificados segundo as diretrizes fornecidas por órgãos internacionais mencionados anteriormente, ou em função da fonte e processo pelo qual são produzidos.

2.1.3.1 Classificação dos lubrificantes segundo órgãos internacionais

Os lubrificantes são classificados por órgãos internacionais de acordo com viscosidade e aplicabilidade. As classificações mais utilizadas pela indústria automobilística são a SAE (Society Automotive of Engineers) quanto a viscosidade dos óleos, e a API (American Petroleum Institute) quanto a aplicabilidade. Outras classificações, como classificações militares.

✓ **Classificação Society of Automotive Engineers (SAE)**

É a classificação mais antiga e conhecida para óleos de motores. Baseia-se única e exclusivamente na viscosidade, não considerando, fatores de qualidade ou desempenho. Os graus SAE de 20 a 60 são definidos pela medida da viscosidade cinemática a 100 °C, quanto maior for o grau maior será a viscosidade a 100°C, ou seja, um óleo SAE 30 é mais viscoso que um SAE 20. Em temperaturas baixas, é definida como SAE W (de inverno) e garante a lubrificação adequada do motor operando em regiões frias (-35° a -5°C) e inclui os graus de 0W a 25W.

Dentro da classificação SAE, o mesmo óleo de motor ou de transmissão pode atender a dois graus de viscosidade SAE. Neste caso o óleo é denominado Multiviscoso. Em temperaturas baixas, um óleo multiviscoso 15W40 se comporta como um óleo grau SAE 15W e a 100°C é um óleo de grau SAE 40. A classificação de viscosidade SAE pode ser J300 para óleos de motor ou J306 para óleos usados de transmissão (Tabela 2.1 e 2.2 respectivamente).

Tabela 2.1-Classificação de viscosidade para óleos de motor SAE J-300 (janeiro 2015)

Grau de viscosidade SAE	Viscosidade (cP) a temperatura (°C) máxima		Viscosidade (cSt) a 100 (°C)	
	Partida	Bombeamento	Mínima	Máxima
0W	3250 a -30	60000 a -40	3,8	-
5W	3500 a -25	60000 a -35	3,8	-
10 W	3500 a -20	60000 a -30	4,1	-
15 W	3500 a -15	60000 a -25	5,6	-
20 W	4500 a -10	60000 a -20	5,6	-
25 W	6000 a -5	60000 a -15	9,3	-
20			5,6	< 9,3
30			9,3	< 12,5
40			12,5	< 16,3
50			16,3	< 21,9
60			21,9	< 26,1

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

Tabela 2.2-Classificação de viscosidade para óleos de transmissão SAE J-306 (janeiro 2015)

Grau de viscosidade SAE	Temperatura máxima (°C) para viscosidade de 150000 (cP)	Viscosidade (cSt) a 100 (°C)	
		Mínima	Máxima
70W	-55	4,1	-
75W	-40	4,1	-
80 W	-26	7,0	-
85 W	-12	11,0	-
90	-	13,5	< 24,0
140	-	24,0	< 41,0
250	-	41,0	-

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

✓ Classificação American Petroleum Institute (API)

Com relação aos óleos automotivos, API classifica os óleos básicos em cinco categorias, conforme ilustrado no Tabela 2.3.

Tabela 2.3-Classificação API dos óleos básicos

Categoria	Saturados ¹ (%m)	Enxofre ² (%m)	Índice de viscosidade ³
Grupo I	< 90	> 0,03	80 a 120
Grupo II	≥ 90	≤ 0,03	80 a 120
Grupo III	≥ 90	≤ 0,03	> 120
Grupo IV	Polialfaolefinas (PAO)		
Grupo V	Outros óleos básicos não incluídos nos grupos I, II, III e IV		

(1) ASTM D 2007; (2) ASTM D 2622 ou ASTM D 4294 ou ASTM D 4927 ou ASTM D 3120; (3) ASTM D 2270.

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

O American Petroleum Institute (API) nos Estados Unidos, juntamente com a American Society for Testing and Materials (ASTM) criaram especificações baseando-se em níveis de desempenho dos óleos lubrificantes, isto é, no tipo de serviço a que a máquina estará sujeita. São classificados por duas letras, a primeira indica basicamente o tipo de combustível do motor. S para motores a gasolina/álcool de Spark Ignition (ignição por explosão) e a letra C para motores a diesel de Compression Ignition (ignição por compressão).

A segunda letra que acompanha o S ou C representa uma melhoria no lubrificante à medida que a letra avança ao final do alfabeto. Assim, é possível verificar que um lubrificante API-SL é melhor que um API-SJ que por sua vez é melhor que um API-SF. Quanto mais avançada à letra do alfabeto melhor é a aditivização do lubrificante. As classificações se apresentam nos Quadros 2.4, 2.5 e 2.6.

Quadro 2.4-Classificação de desempenho API dos óleos lubrificantes para motores de combustão interna

Classificação	Função
AS, SB, SC, SD, SE, SF, SG, SH	Obsoletos
SJ	Lubrificante recomendado para motores à gasolina, álcool e gás natural veicular. Apresentam características de desempenho com maior proteção contra ferrugem. Oxidação e a formação de depósitos. Esta categoria pode substituir as anteriores.
SL	Surgiu em 2001 e é uma evolução do SJ, podendo ser utilizados em veículos FLEX, ou seja, que utilizam álcool ou gasolina.
SM	Surgiu em 2004 em diante, para todos os motores atuais – maior resistência a oxidação, melhor proteção contra formação de borra e melhor desempenho com o motor frio.

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

Quadro 2.5-Classificação de desempenho API dos óleos lubrificantes para motores de combustão espontânea (diesel)

Classificação	Função
CA, CB, CC, CD, CE, CF, CG-4	Obsoletos
CH-4	Foi desenvolvida para entender rigorosos níveis de emissão de poluentes, em motores de alta rotação e esforço, que utilizam óleo diesel com até 0,5% de enxofre. Os óleos desta categoria proporcionam especial proteção contra desgaste nos cilindros e anéis de vedação, além de possuírem o adequado controle de volatilidade, oxidação, corrosão, espuma. A classificação CH-4 substitui as classificações anteriores para motores de quatro tempos a diesel.
CI-4	Introduzido em 2002 para motores de quatro tempos a diesel
CJ-4	Atendem a todas as necessidades dos motores 2010 e posteriores, para uso em aplicações tanto em estrada. O uso dos óleos API CJ-4 é mais importante do que nunca com a introdução de novas regulamentações.

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

Com relação aos lubrificantes para transmissão, considerando a capacidade de carga como a principal característica dos lubrificantes para engrenagens, a API criou uma especificação GL (Gear Lubricants- Lubrificantes de Engrenagens):

Quadro 2.6-Classificação GL de desempenho API dos óleos lubrificantes de engrenagens

Classificação	Função
GL-1	Óleo de engrenagens helicoidais e sem-fim, operando sob condições de baixa pressão e velocidade. Atualmente não é mais utilizado.
GL-2	Em desuso
GL-3	Serviço de engrenagens cônicas helicoidais sob condições de moderada severidade de velocidade e carga. Suportam condições mais severas que o GL-2 e contém aditivos antidesgaste.
GL-4	Serviço de engrenagens operando com alta velocidade e alto torque. Não se aplica, geralmente, aos diferenciais antiderrapantes. Contém aditivos de Extrema Pressão.
GL-5	Idem à GL-4, resistindo ainda a carga de choque
GL-6	Em desuso

Fonte: Adaptado de (SCHIRRU, 2017)

A Figura 2.1, exemplifica uma embalagem de lubrificante na qual a classificação SAE é 15W-40 e SL API, indicando que é um lubrificante multiviscoso para veículos FLEX.

Figura 2.1-Exemplo classificação SAE e API, de um óleo lubrificante comercial

Fonte: autoria própria

✓ Classificação ISO

Classifica os óleos industriais em que a viscosidade é um fator preponderante para a seleção, também baseada na viscosidade medida a 40 °C. Tem valor médio, com

tolerância de 10% para mais ou para menos e aplica-se a óleos industriais em que viscosidade é fator primário de seleção (Tabela 2.4).

Tabela 2.4-Classificação ISO dos óleos lubrificantes industriais

ISO Standard 3448 ASTM d-2422	Ponto médio de viscosidade cSt	Viscosidade cinemática, cSt	
		Mínimo	Máximo
ISO VG 2	2,2	1,98	2,42
ISO VG 3	3,3	2,88	3,53
ISO VG 5	4,6	4,14	5,06
ISO VG 7	6,8	6,12	7,48
ISO VG 10	10	9	11
ISO VG 15	15	13,5	16,5
ISO VG 22	22	19,8	24,2
ISO VG 32	32	28,8	35,2
ISO VG 46	46	41,4	50,6
ISO VG 68	68	61,2	74,8
ISO VG 100	100	90	110
ISO VG 150	150	135	165
ISO VG 220	220	198	242
ISO VG 320	320	288	352
ISO VG 460	460	414	506
ISO VG 680	680	612	748
ISO VG 1000	1000	900	1100
ISO VG 1500	1500	1350	1650

Fonte: Adaptada de (SCHIRRU, 2017)

✓ Classificação da American Gears Manufacturers Association (AGMA)

A classificação para lubrificantes de engrenagens (AGMA 9005-D94) usa a viscosidade e a aditivação do óleo e determina parâmetros de desempenho, como índice de viscosidade mínimo para cada grau AGMA.

2.1.3.2 Classificação em função da fonte

Os lubrificantes podem ser classificados, primariamente, em função da fonte ou do processo pelo qual são produzidos, em três grandes grupos: minerais, sintéticos e naturais (REEVES; SIDDAIAH; MENEZES, 2017).

✓ Minerais

Correspondem as frações obtidas na destilação do petróleo, com uma viscosidade desejável para lubrificação. Estas bases são de fácil preparo e baixo custo, porém tem duração reduzida e em alguns casos podem não cumprir os requerimentos de motores de alto desempenho (BOOSER, 1983; RUDNICK, 2013).

Estes possuem em média 20 a 50 átomos de carbono por molécula, as quais podem ser de cadeias parafínicas (alcanos lineares ou ramificados), naftênicas (cicloalcanos com cadeias laterais) ou aromáticas (principalmente alquil-benzenos), como ilustrado na Figura 2.2.

Figura 2.2-Tipos de hidrocarbonetos presentes nos óleos minerais

Fonte: Modificado de (MANG; DRESEL, 2007)

Além dos três tipos de hidrocarbonetos, outros compostos podem estar presentes em menor proporção, contendo outros elementos como oxigênio, enxofre, nitrogênio, fósforo ou metais, com frequência presentes em substâncias resinosas de alta massa molecular nomeadas asfaltenos (RUDNICK, 2013).

Segundo a fração e o processo de refino, é possível obter lubrificantes de diferentes proporções dos seus componentes. A composição dos óleos determina suas características classificadas em três grupos como se mostra no Tabela 2.5 (LANDSDOWN, 2007).

Tabela 2.5-Classificação dos óleos minerais segundo sua composição

Compostos	Naftênicos	Parafínicos	Altamente refinados
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Cadeias Parafínicas	50%	63%	95%
Anéis Naftênicos	40%	33%	3%
Anéis Aromáticos	10%	2%	0,1%
Sulfetos*	1%	0,5%	0,1%
Asfaltenos	2%	1%	- - -

*Porcentagem em peso

Fonte: Adaptado de LANDSDOWN, 2007

✓ Sintéticos

Os lubrificantes sintéticos são produzidos por síntese química e usam como base moléculas obtidas em síntese orgânica, do tipo polialfaolefinas (PAOs) e ésteres. É um processo caro, porém permite obter produtos estáveis de alta qualidade, para condições intensas de trabalho, mostrando propriedades lubrificantes melhoradas com relação aos óleos refinados (BOOSER, 1983; RUDNICK, 2013).

Tais melhoramentos permitem o uso dos óleos em uma faixa elevada de temperatura devido a maior estabilidade oxidativa e ao menor coeficiente de fricção.

Além disso, com o melhoramento do índice de viscosidade e do ponto de fluência as temperaturas de trabalho podem ser reduzidas. Entretanto, tais modificações incrementam o custo do produto, sendo aproximadamente 3 vezes maior quando comparado ao custo dos óleos refinados. O maior custo é compensado com o tempo de vida útil do produto, que pode ser 3 vezes superior com relação os óleos convencionais (LANSDOWN, 2007). Entre os lubrificantes sintéticos se destacam: as poliolefinas, ésteres sintéticos, ésteres de poliol e ésteres complexos

✓ **Poliolefinas (PAOs):** O termo PAO foi usado pela primeira vez pela “Gulf Oil Company” e tem sido aceito internacionalmente como o nome genérico dos hidrocarbonetos gerados pela oligomerização catalítica de α -olefinas lineais, normalmente 1-deceno, produzido a partir de eteno (RUDNICK, 2013). Devido à composição uniforme é possível obter produtos de propriedades lubrificantes excepcionais e atualmente usados como fluídos base da maioria dos lubrificantes de alto rendimento, óleos sintéticos de motor, óleos hidráulicos de baixas temperaturas, entre outros. O problema principal das PAOs é a baixa polaridade e biodegradabilidade com exceção das PAOs de baixa viscosidade que mostram biodegradabilidade moderada (BART; GUCCIARDI; CAVALLARO, 2013). É possível obter frações de qualquer viscosidade cinemática e todas têm índice de viscosidade superior à dos óleos minerais. As PAOs mostram propriedades a frio excepcionais, porque apresentam pontos de fluência menores que os óleos minerais. Os pontos de fulgor são semelhantes aos dos óleos minerais, que aumentam com a viscosidade da fração.

✓ **Ésteres sintéticos:** Os primeiros ésteres sintéticos foram desenvolvidos na Alemanha durante a 2ª guerra mundial, porque os hidrocarbonetos disponíveis não satisfaziam às demandas dos óleos para os motores dos aviões. Os ésteres são uma ampla família de lubrificantes sintéticos que podem ser desenhados para cumprir qualquer especificação física ou de comportamento na aplicação.

✓ Os di-ésteres foram os primeiros ésteres sintéticos desenvolvidos. Este tipo de produto é obtido da esterificação de mono-álcoois com di-ácido, obtendo uma molécula que pode ser linear, ramificada ou aromática com dois grupos éster (KANIA et al., 2015). Somente podem trabalhar na faixa de baixas viscosidades, porém, com índice de viscosidade maior quando comparado aos óleos minerais e as PAOs. Estes compostos mostram boas propriedades a frio, com pontos de fluência inferiores a -60 °C, bem como

melhores pontos de fulgor. Seu maior inconveniente é a impossibilidade de obter produtos de viscosidades maiores (SALIH et al., 2017). As propriedades finais dos di-ésteres estão totalmente ligadas aos ácidos e álcoois utilizados na sua síntese. A Figura 2.3 mostra as estruturas químicas de alguns di-ésteres usados em lubrificação.

Figura 2.3-Estrutura química de alguns di-ésteres utilizados em lubrificação

Fonte: Adaptado de (RUDNICK, 2013)

- ✓ **Ésteres de poliol:** Foram desenvolvidos com finalidade de obter produtos de maior viscosidade que os di-ésteres, são produzidos pela reação de um ácido monobásico com álcool polihídrico. Possuem alta estabilidade oxidativa, alta estabilidade hidrolítica, excelente desempenho a baixa temperatura e biodegradabilidade relativamente alta. Os ésteres de poliol possuem maior variedade de viscosidades disponíveis em comparação com di-ésteres, embora tenham propriedades semelhantes (KANIA et al., 2015).
- ✓ A Figura 2.4 mostra a estrutura química de alguns ésteres de poliol nos quais o ácido oleico tem sido usado como monoácido. O uso de ácidos graxos insaturados permite a obtenção de produtos de maior viscosidade, comparados com os produtos que usam ácidos saturados ou de cadeias curtas, mantendo um bom índice de viscosidade e ponto de fluência. A maior dificuldade deste tipo de produtos é que a presença de insaturações facilita a degradação (LAWSON, 1995).

Figura 2.4-Exemplos de ésteres de poliol

Fonte: Adaptado de (MANG; DRESEL, 2007)

- ✓ **Ésteres complexos:** são o resultado da polimerização dos ésteres de poliol com misturas de mono, di e tri ésteres de ácidos carboxílicos. A viscosidade dos ésteres complexos aumenta com a massa molar média, obtendo-se produtos de maior viscosidade, conforme aumenta o grau de polimerização. Dependendo dos reagentes usados na síntese, é possível obter uma grande variedade de compostos de estruturas e propriedades diferentes sendo adequados para muitos processos que requerem elevada viscosidade (REEVES; SIDDAIAH; MENEZES, 2017).

Tabela 2.6-Propriedades físicas de diferentes tipos de ésteres lubrificantes

Propriedade	Monoésteres	Di-ésteres	Ésteres de poliol	Ésteres complexos
Índice de viscosidade	150 a 230	0 a 90	40 a 170	130 a 230
Ponto de fluidez (°C)	-35 a 25	-70 a -40	-60 a 7	-60 a -20
Ponto de fulgor (°C)	180 a 220	200 a 260	250 a 320	240 a 280

Fonte: adaptada de (KANIA et al., 2015; LANSDOWN, 2007; MANG; DRESEL, 2007; RUDNICK, 2013)

Naturais

- ✓ Lipídios de todos os tipos foram utilizados ao longo dos tempos como alimentos, combustíveis, lubrificantes e materiais de partida para outros produtos químicos e são amplamente distribuídos na natureza; eles são derivados de fontes vegetais, animais e marinhas.
- ✓ Os óleos naturais, são constituídos predominantemente por tri-ésteres de glicerol com ácidos graxos e são denominados triacilgliceróis. Os triacilgliceróis (TAGs) são os principais componentes dos óleos e gorduras e são ésteres de ácidos graxos formados por meio da reação de esterificação, uma molécula de glicerol com três moléculas de ácidos graxos.

- ✓ Uma molécula de glicerol é constituída por três átomos de carbono, ao qual estão ligados três grupos hidroxilas (-OH), portanto sendo um tri- álcool. Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos (-COOH), podendo ter ou não insaturações. Na Tabela 2.7 é apresentada a composição em ácidos graxos em alguns óleos vegetais.

Tabela 2.7-Composição em ácidos graxos monocarboxílicos de alguns óleos vegetais

Ácido Graxo	Coco (%)	Palmiste (%)	Palma (%)	Colza (%)	Soja (%)
C6 (Capróico)	< 0.6	< 0.8			
C8 (Caprílico)	4.6 - 9.4	1.9 - 6.2			
C10 (Cáprico)	5.5 - 7.8	2.6 - 5.0			
C12 (Láurico)	45.1 - 50.3	40 - 55	< 0.4		
C14 (Mirístico)	16.8 - 20.6	14 - 18	0.5 - 2.0		
C16 (Palmítico)	7.7 - 10.2	6.5 - 10.3	40 - 48	3.3 - 6	9.7 - 13.3
C18 (Estearico)	2.3 - 3.5	1.3 - 3	3.5 - 6.5	1.1 - 2.5	3.0 - 5.4
C18:1 (Oleico)	5.4 - 9.9	12 - 21	36 - 44	52 - 67	17.7 - 28.5
C18:2 (Linoleico)	0.8 - 2.1	1 - 3.5	6.5 - 12	16 - 25	49.8 - 57.1
C18:3 (Linolênico)				6 - 14	5.5 - 9.5

Fonte: Adaptada de (FOX; STACHOWIAK, 2007; MUSA, 2010; SHASHIDHARA; JAYARAM, 2010).

Os ácidos graxos se caracterizam por ter uma cadeia alifática de número par de carbonos que podem apresentar instaurações. Os ácidos graxos têm grande similaridade com os hidrocarbonetos se diferenciando somente pelo grupo carboxila. A Figura 2.5 mostra os ácidos graxos mono-carboxílicos de origem naturais mais importantes.

Figura 2.5-Ácidos graxos mono-carboxílicos de origem natural

Fonte: Modificado de FRANK D. GUNSTONE, JOHN L. HARWOOD, 2007

Os óleos vegetais como lubrificantes são preferidos não só porque serem matérias-primas renováveis, mas também porque são biodegradáveis e não tóxicos (SHASHIDHARA; JAYARAM, 2010) e apresentam a maioria das propriedades necessárias para lubrificantes, como alto índice de viscosidade, baixa volatilidade e boa lubrificação (Tabela 2.8). No entanto, os óleos vegetais têm baixa estabilidade oxidativa e térmica, devido à presença de insaturações (SAMARTH; MAHANWAR, 2015).

Tabela 2.8-Propriedades físicas de alguns óleos vegetais

Propriedades	Óleo de coco babaçu	Óleo de andiroba	Óleo de palma	Óleo de palmiste
Índice de viscosidade	167	176	188	176
Ponto de fulgor (°C)	250	226	280	242
Ponto de fluidez (°C)	21	-12	9	22

Fonte: Adaptado de (REDDY et al., 2014, ROBERTO et al., 2016, MUSA, 2010)

O Quadro 2.7 apresenta alguns tipos de óleos vegetais lubrificantes desenvolvidos para aplicações industriais.

Quadro 2.7-Aplicações industriais de alguns óleos vegetais

Óleo	Aplicação
Canola	Óleos hidráulicos, fluidos de transmissão de trator, lubrificante de qualidade alimentar, óleos penetrantes, fluidos para trabalho com metais.
Castor	Lubrificantes de engrenagens, graxas.
Coco	Óleos para motores a gás.
Oliva	Lubrificantes automotivos.
Palma	Lubrificante de rolamento, indústria siderúrgica, graxas.
Colza	Lubrificantes para motosserras e equipamento agrícola com compressão de ar, graxas biodegradáveis.
Linhaça	Recobrimento, tintas, lacas, vernizes, corantes
Soja	Lubrificantes, biodiesel, tintas de impressora, sabão, shampoos, detergentes, pesticidas, desinfetantes.
Girassol	Graxas, substitutos do combustível diesel.

Fonte: modificado de (SHASHIDHARA; JAYARAM, 2010)

✓ Óleo de Palmiste

A palma (*Elaeis guineense*) é uma oleaginosa da qual se extraem dois tipos de óleos com características e usos diferentes - o óleo de palma e o óleo de palmiste, do pericarpo de da semente, respectivamente. Ambos são usados, principalmente, nas indústrias de alimentos (chocolate, biscoitos, margarinas, gorduras especiais, etc.), na indústria

química (cosméticos, produtos de uso pessoal e ‘home care’), e na produção de combustíveis renováveis (biodiesel).

Por cada hectare de palma que é colhida durante todo o ano, a produção anual é de 10 toneladas de frutos, que produzem 3000 kg de óleo de pericarpo e 750 kg de grãos de semente que, por sua vez, produzem 250 kg de óleo de palmiste de alta qualidade (OLANIYI; BABALOLA; MARY, 2014).

O palmiste é um óleo que se mantém semissólido em temperatura ambiente, sendo mais saturado do que o óleo de Palma. O óleo de palmiste, é bastante semelhante ao óleo de coco, possui características muito diferentes daquelas encontradas no óleo de palma. Por possuir principalmente ácidos graxos de cadeia curta (C12:0, C14:0) e apresentar baixo grau de insaturação, o palmiste tem alta estabilidade oxidativa. Assim como outros óleos vegetais, este insumo também pode ser usado na produção de biodiesel para motores de combustão interna.

Os principais produtores de óleo de palma, encontram-se no Sudeste Asiático, onde a Indonésia e a Malásia respondem por aproximadamente 85% da produção mundial. Outros países produtores de incluem África Ocidental. Embora, Colômbia é o maior produtor de óleo de palma das Américas. No Brasil, tem condições agrícolas adequadas para a produção de palma, porém, esta representa apenas 0,5% do volume produzido no mundo. Os maiores consumidores estão na Ásia (China, Índia e Paquistão) e na Europa (“Independent Global Market Analyses & Forecasts Since 1958”, 2017).

A transesterificação do óleo de palmiste para a obtenção de biolubrificantes tem sido reportada em alguns trabalhos, como por exemplo os resultados descritos por (SANNI et al., 2017) referente a conversão de 98% dos triacilgliceróis do óleo de palmiste em metil ésteres seguida da transesterificação com etilenoglicol para a produção de ésteres de poliol, ambas as etapas usando catalisadores químicos alcalinos. Os ésteres de poliol são misturados com óleos minerais usados como lubrificantes. Dörmo et al., 2004 também reportaram resultados referentes a produção de biolubrificantes mediante esterificação enzimática de óleo fúsel com ácidos graxos.

2.2 Biolubrificantes

O termo "biolubrificante" foi atribuído a lubrificantes provenientes de matérias-primas de origem biológica, como óleos vegetais, gorduras animais ou outras fontes biodegradáveis de hidrocarbonetos. Um biolubrificante possui a capacidade comprovada de ser decomposto, por ação microbiana, em um determinado intervalo de tempo. Em termos gerais, biodegradabilidade significa a tendência de um lubrificante ser metabolizado por micro-organismos em até um ano (KANIA et al., 2015).

A maior parte dos fluidos hidráulicos de origem vegetal, é prontamente biodegradada. Os óleos vegetais são tipicamente 99% biodegradáveis, podendo ser reduzida, usualmente, para 90% a 98% após a mistura com aditivos. Por outro lado, a biodegradabilidade dos óleos minerais é de apenas 20% (SOCCOL; FRANÇA; REZENDE, 2016).

A tecnologia inicial para biolubrificantes foi baseada em óleos vegetais, os quais foram submetidos a tratamentos mínimos químicos e posteriormente aditivados para aumento de desempenho.

Os biolubrificantes, têm várias propriedades como a estabilidade térmica e oxidativa, viscosidade, índice de viscosidade e comportamento a baixas temperaturas que são dependentes da estrutura da molécula e a composição em triacilgliceróis e apesar de seus muitos atributos favoráveis, a maior desvantagem é a sua baixa estabilidade térmico-oxidativa, solidificação a baixas temperaturas (altos pontos de fluidez), deterioração biológica e instabilidade hidrolítica. Adicionalmente, muitos biolubrificantes, particularmente os ésteres são susceptíveis a rápida degradação oxidativa devido à presença de ácidos graxos livres e ligações duplas na cadeia de carbono (REEVES; SIDDAIAH; MENEZES, 2017).

Considerando as limitações, vários projetos de pesquisa foram desenvolvidos para melhorar as propriedades físico-químicas dos biolubrificantes. Esses estudos demonstraram que os biolubrificantes podem ser substitutos eficientes e baixo custo para óleos derivados do petróleo. O resumo de alguns trabalhos realizados por vários pesquisadores em relação às características dos biolubrificantes é mostrado no Quadro 2.8.

Quadro 2.8-Resumo de alguns trabalhos desenvolvidos por vários autores em caracterização de biolubrificantes a base de óleos vegetais com relação aos lubrificantes comerciais

Biolubrificantes	Lubrificante referencia	Resultado	Referência bibliográfica
Óleo de coco	SAE 20W50	Menor coeficiente de fricção, boas propriedades antidesgaste, melhores propriedades lubrificantes	(JAYADAS; PRABHAKARAN NAIR; G, 2007)
Óleo de palma	SAE 20W50	Menor corrosividade, menor coeficiente de fricção, boas propriedades oxidativas e anticorrosivas, forte estabilidade da película lubrificante.	(PENG, 2015)(NICOLAU et al., 2014)(CHHIBBER; SANKET; SAXENA, 2015)
Óleo de palma residual	SAE 40	Baixo coeficiente de fricção, alta viscosidade.	(KALAM et al., 2011)
Óleos vegetais: jatropha, soja, oliva, coco, mamona, girassol, karanja, etc.	Óleos minerais derivados do petróleo	Alto ponto de fulgor, alto índice de viscosidade, alta lubricidade, menores perdas por evaporação e melhor desempenho, menor custo e ecologicamente amigável	(ATTAR et al., 2016)(STOJILKOVIĆ; KOLB, 2016)(TIWARI; WANKHADE, 2015)(HEIKAL et al., 2017)
Óleo de mamona	Óleo mineral super refinado	Bom índice de viscosidade, baixa tendência a formar depósitos, baixa volatilidade, altas concentrações de antioxidantes	(KARMAKAR; GHOSH; SHARMA, 2017)
Óleo de soja	Óleos minerais derivados do petróleo	Menor coeficiente de fricção, melhores propriedades lubrificantes, não tóxico, barato e ecologicamente amigável	(CHEENKACHORN, 2013)
Óleo de jatropha	SAE 20W40	Emissões completamente eliminadas, baixo coeficiente de fricção.	(AJI; KYARI; ZOAKA, 2015)
Biolubrificante de colza quimicamente modificado	SAE20W40	Boa estabilidade oxidativa, melhora das propriedades de fluxo a frio, melhor desempenho em termos de fricção.	(MCNUTT; HE, 2015)

Fonte: Modificado de (MOBARAK et al., 2014)

2.2.1 Modificações químicas de óleos e gorduras para a obtenção de ésteres lubrificantes

Nas últimas décadas o interesse na modificação de óleos e gorduras tem sido incrementado devido ao seu caráter renovável (GRYGLEWICZ; MUSZYŃSKI; NOWICKI, 2013).

Os óleos e gorduras naturais podem estar presente como o único componente de um produto ou podem fazer parte de uma mistura de vários constituintes. Existem casos, entretanto, que se torna necessário modificar as características desses materiais, para adequá-los a uma determinada aplicação, como por exemplo, o uso como biolubrificantes. Portanto, o setor industrial de óleos e gorduras, tem desenvolvido diversos processos para manipular a composição das misturas de triacilgliceróis (SUN et al., 2012a).

Assim, mais de 90% das modificações químicas ocorrem nos grupos carboxílicos dos ácidos graxos, enquanto menos de 10% envolvem reações na cadeia do ácido graxo. Sem sacrificar as características favoráveis de viscosidade-temperatura e de lubricidade, óleos vegetais insaturados podem ser convertidos em produtos estáveis termo-oxidativamente, por meio da saturação das duplas ligações carbono-carbono utilizando reações de arilação, alquilação, ciclização, hidrogenação, epoxidação, entre outras (SOCCOL; FRANÇA; REZENDE, 2016), como é ilustrado na Figura 2.6.

Figura 2.6-Processos e produtos da indústria oleoquímica

Fonte: Adaptado de (FRANK D. GUNSTONE, JOHN L. HARWOOD, 2007; LAWSON, 1995)

2.2.2 Transesterificação para a obtenção de ésteres biolubrificantes

O processo mais utilizado na transformação de óleos e gorduras é a produção de ésteres de ácidos graxos. Na transesterificação de óleos e gorduras, especificamente, um triacilglicerol reage com um álcool na presença de um catalisador produzindo uma mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos e glicerol, como ilustrado na Figura 2.7, ocorrendo em três etapas de reações consecutivas (Figura 2.8) com a formação de diacilgliceróis (DAGs) e monoacilgliceróis (MAGs) (TALEBIAN-KIAKALAIEH; AMIN; MAZAHARI, 2013).

Figura 2.7-Esquema geral da reação de transesterificação

Fonte: Modificado (TALEBIAN-KIAKALAIEH; AMIN; MAZAHARI, 2013).

Figura 2.8-Etapas da reação de transesterificação de triacilgliceróis

Fonte: Adaptado de (RAMOS et al., 2017)

Normalmente, altas conversões somente são alcançadas com o emprego de razões molares que podem variar de duas até dez vezes em relação à razão estequiométrica óleo para álcool, devido à reversibilidade da reação havendo, dessa forma, um deslocamento do equilíbrio no sentido de formação dos produtos (ARANSIOLA et al., 2014). Outros fatores, como tempo de reação, tipo e carga de catalisador, temperatura reacional, pureza dos reagentes e quantidade de ácidos graxos livres presentes nas matérias-primas, influenciam significativamente este processo.

O álcool é uma das considerações mais importantes na reação de transesterificação para a produção de ésteres alquílicos, como por exemplo, na produção de biodiesel, a reação de transesterificação mais conhecida, vários álcoois têm sido testados, sendo o metanol e o etanol os mais frequentemente usados, porém apresentam várias desvantagens como a toxicidade do metanol. Outros álcoois de cadeias curtas como propílico, butílico, isopropílico e outros álcoois ramificados, tem sido usados, porém, têm custos elevados (MUSA, 2016).

Os ésteres biolubrificantes, podem ser obtidos por transesterificação direta de óleos vegetais com álcoois superiores (OH et al., 2013). Considerando a importância do aceptor de acila nas reações de transesterificação para a produção de biolubrificantes, vários trabalhos têm sido desenvolvidos, como se ilustra no Quadro 2.9.

Quadro 2.9-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando diferentes álcoois

Álcool	Razão molar (óleo: álcool)	Biocatalisador	Tipo de óleo ou gordura	Condições reacionais	Referência
Etílico	1:4	Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em Celite	Óleo de jatropha	Tempo: 8 horas Temperatura: 50°C Solvente: adição de 50 g.kg ⁻¹ de água Conversão: 98%	(ARANSIOLA et al., 2014) (RUGGIERO et al., 2016)
		Lipase livre de <i>Burkholderia cepacia</i>		Tempo: 24 horas Temperatura: 40°C Solvente: isento Conversão: 65%	
		Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em Celite		Tempo: 24 horas Temperatura: 40°C Solvente: isento Conversão: 91%	
Etílico	1:9 e 1:7	Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em SiO ₂ -PVA	Óleos de babaçu, andiroba, jatropha, macaúba, palma e sebo bovino	Tempo: 24 horas Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: >94.5%	(CARVALHO et al., 2013)
Etílico	1:4,5	Lipase líquida Callera™ Trans	Óleo de colza	Tempo: 24 horas Temperatura: 35°C Solvente: isento Conversão: 98% Com adição de água e glicerol	(TOFTGAARD PEDERSEN et al., 2014)
Etílico	1:7	Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em sílica-PVA	Óleo de babaçu	Tempo: 48 horas Temperatura: 39°C Solvente: isento Conversão: 98 %	(FREITAS et al., 2009)

Continua

Quadro 2.9-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando diferentes álcoois

Continuação

Etílico	1:12	Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em SiO ₂ -PVA	Óleo de babaçu	Tempo: 48 horas Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: 100%	(DA RÓS et al., 2010)
		Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em Nb ₂ O ₅		Tempo: 48 horas Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: 78%	
Etílico, propílico, isopropílico, isobutílico	1:4	Lipases Novozym 435, Lipozyme RMIM	Óleo residual de cozinha	Tempo: 20 horas Temperatura: 45°C Solvente: isento Conversão: entre 57 e 62% para ésteres etílicos, 43 e 75% propílicos, 28 e 64% isopropílicos, 70 e 80% isobutílicos, 59 e 89% isoamílicos.	(LIU et al., 2010)
		Lipases Novozym 435, Lipozyme RMIM		Tempo: 20 horas Temperatura: 45°C Solvente: tert-butanol Conversão: entre 43 e 62% ésteres etílicos, 50 e 64% propílicos, 28 e 64% isopropílicos, 22 e 62% isobutílicos, 55 e 72% isoamílicos	
Butílico	1:10	Lipase de <i>Candida rugosa</i> em uma matriz de carvão ativado	Óleo de palma	Tempo: 1 hora Temperatura: 35°C Solvente: isento Conversão: 85%	(MORENO-PIRAJÀN; GIRALDO, 2011)

Continua

Quadro 2.9-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando diferentes álcoois

Conclusão

Etílico, Propílico, Butílico isopropílico e isobutílico	1:6	Lipase de <i>Candida antarctica</i> B imobilizada em carvão granular	Óleo de palma	Tempo: 40 horas Temperatura: 40°C Solvente: isento Conversão: ésteres isobutílicos 100%, isopropílicos 86%, butílicos 77%, propílicos 68% e etílicos 57%	(NARANJO et al., 2010)
1-Hexanol, 1-octanol e 1-dodecanol	1:3	Mistura de lipase de <i>Mucor miehei</i> e Novozym 435	Óleo de mamona	Tempo: 24 horas Temperatura: 50°C Solvente: ausência e presença de hexano Conversão: entre 80 e 95%	(MALHOTRA; MUKHERJEE; GUPTA, 2015)
Etílico, propílico, isopropílico, butílico, isobutílico, amílico, isoamílico	1:12	Lipase de Carica Papaya	Jatropha, Girassol, milho, algodão, mamona, oliva, colza, soja	Tempo: 20 horas Temperatura: 55°C Solvente: ausência e presença de hexano Conversão: em torno de 96%	(SU; WEI, 2014)
Óleo fúsel	1:3,25 e 1:3	Lipase Lipozyme TL IM	Óleo de coco	Tempo: 20 horas Temperatura: 25, 23°C Solvente: sem Conversão: 85%	(SUN et al., 2012a)(SUN et al., 2012b)(LIU et al., 2010)

Fonte: autoria própria

Entre os vários aceptores de acila estudados, alguns trabalhos reportam o uso do óleo fúsel para obter ésteres por via enzimática (LIU et al., 2010; SUN et al., 2012a, 2012b) não obstante, a maioria dos estudos faz uso da fração do álcool isoamílico extraído, considerando o processo de purificação do óleo fúsel (FERREIRA; MEIRELLES; BATISTA, 2013).

O óleo fúsel é a fração menos volátil obtida durante o processo de destilação do álcool combustível, sendo considerado um resíduo. Para cada 1000 litros de etanol produzido, gera-se 2,5 litros de óleo fúsel. A produção brasileira de etanol (anidro e hidratado) em 2011 excedeu os 27 bilhões de litros, nessa escala, um total de 67,5 milhões de litros de óleo fúsel podem ser gerados por ano (FERREIRA; MEIRELLES; BATISTA, 2013).

A composição do óleo fúsel compreende uma mistura de álcoois de mais de dois átomos de carbono, tais como álcool isoamílico, isobutanol, propanol, butanol e outros, obtidos durante a destilação do bioetanol. A composição depende da fonte de carbono usado na etapa de fermentação na produção de etanol e o método de separação, sendo que além dos álcoois contem água e pequenos teores de aldeídos e terpenos. A composição do óleo fúsel é descrita na Tabela 2.9 (CALAM et al., 2015).

Tabela 2.9-Propriedades físicas e composição do óleo fúsel

Composto	% Volumétrico	% Molar
Álcool isoamílico	63,93	61,52
Álcool isobutílico	16,66	15,87
Álcool butílico	0,74	0,71
Álcool propílico	0,74	0,70
Álcool etílico	9,58	8,98
Água	10,30	12,23

Fonte: Adaptada de (CALAM et al., 2015)

Continuando com os fatores que mais influenciam na transformação de triacilglicerol em presença de álcool a seus respectivos ésteres, as reações de transesterificação, podem ocorrer em condições supercríticas (altas temperatura e pressão) sem presença de catalisador (KWON et al., 2014), ou na presença de catalisadores homogêneos ou heterogêneos (ácidos ou básicos) ou enzimáticos (lipases) (DA CONCEIÇÃO et al., 2016).

A transesterificação com catalisadores homogêneos é comumente aplicada na indústria, podendo ocorrer via catálise básica, ou via catálise ácida. A reação de

transesterificação alcalina é a mais conhecida atualmente por apresentar um curto tempo de reação e condições amenas de temperatura.

O hidróxido de potássio (KOH) e o hidróxido de sódio (NaOH) são os catalisadores alcalinos mais usados no processo de transesterificação. O metóxido de sódio é mais efetivo que o KOH e o NaOH, mas tem alto custo (AALAM; SARAVANAN, 2015). Os catalisadores básicos são extremamente sensíveis à presença dos ácidos graxos livres e água. A quantidade de metóxido de sódio requerido da ordem de 0,4 a 0,6 % m.m⁻¹ em relação a massa de óleo e proporções mais elevadas que 0,6 m.m⁻¹ leva à formação de água, reduzindo a velocidade de reação e favorecendo a formação de sabão (JADHAV; TANDALE, 2017).

A transesterificação também pode ser homogênea ácida, usando ácidos fortes, tais como ácido sulfúrico, fosfórico e sulfônico. A rota ácida é preferida a alcalina para óleos contendo elevados teores de acidez e água. Além dos baixos rendimentos e reações mais lentas se comparados ao processo alcalino, o emprego da catálise ácida ainda possui a desvantagem da necessidade de equipamentos mais resistentes à corrosão (TALEBIAN-KIAKALAIEH; AMIN; MAZAHARI, 2013). Adicionalmente, elevados rendimentos com esses catalisadores só podem ser alcançados em condições de altas temperaturas, geralmente superiores a 100 °C e tempo de reação mínimo de 3 h para a completa conversão (PATHAK; CHANDRA, 2016).

Apesar da eficiência dos catalisadores homogêneos (alcalinos e ácidos) geralmente grande excesso de álcool é necessário podendo levar a problemas de contaminação dos produtos, que requerem um melhor processo de separação para conseguir produtos de alta pureza.

Vale a pena mencionar, que as reações de transesterificação podem também ser mediadas por catalisadores sólidos básicos e ácidos, este tipo de catálise é denominada heterogênea e facilita a recuperação dos catalisadores e a purificação dos produtos, assim como o seu uso em processos contínuos como reatores de leito fixo, especialmente em processo em grande escala. Dentre os catalisadores mais estudados, estão os óxidos mistos, resinas de troca iônica, heteropoliácidos, sulfatos de zircônia e zeólitas (DA CONCEIÇÃO et al., 2016).

Os catalisadores heterogêneos básicos são mais ativos que os heterogêneos ácidos, similar ao observado com os catalisadores homogêneos. Além disso, catalisadores sólidos alcalinos, como o óxido de cálcio (CaO), fornecem muitas vantagens como alta atividade, longa vida útil do catalisador e podem atuar em condições moderadas de reação (TALHA; SULAIMAN, 2016).

No entanto, os catalisadores ácidos heterogêneos têm potencial como alternativa aos catalisadores ácidos homogêneos. Algumas das vantagens deste tipo de catálise, são a possibilidade de usar óleos com altos teores de ácidos graxos livres, realizar simultaneamente esterificação e transesterificação, eliminar a lavagem dos ésteres, recuperação e reutilização do catalisador e a redução dos problemas de corrosão (LOURINHO; BRITO, 2015).

As vantagens da rota química são a possibilidade de obter elevadas taxas de conversão em períodos curtos de reação, baixo custo de catalisador e condições de reação moderadas (LEUNG; YAU, 2017). Na literatura podem ser encontrados vários estudos da produção de biolubrificantes derivados de óleos vegetais usando catalisadores químicos (MCNUTT; HE, 2015).

2.2.2.1 Transesterificação enzimática

A busca de novas abordagens dos catalisadores para as reações de transesterificação, não se limita às rotas catalíticas químicas convencionais. Recentemente, os biocatalisadores vem ganhando espaço para potencialmente serem capazes de superar os catalisadores químicos na transesterificação (LOURINHO; BRITO, 2015).

Os biocatalisadores usados nas reações de transesterificação de óleos e gorduras, pertencem a classe das hidrolases, especificamente lipases. As vantagens das lipases comparadas com o catalisadores químicos (ácidos e bases) são múltiplas, como o menor requerimento energéticos, alta seletividade, condições moderadas de operação, menor formação de subprodutos e ausência da formação de sabão (MEUNIER; KARIMINIA; LEGGE, 2017).

No entanto, o uso de enzimas na produção de ésteres de alquila apresenta alguns desafios como a inibição pelo substrato alcoólico (principalmente álcool de cadeia curta, metanol), pelo subproduto formado (glicerol) e o alto custo das enzimas (AMINI et al., 2017).

As lipases (EC 3.1.1.3) são triacilglicerol hidrolases atuam nas cadeias carboxílicas éster e não requerem cofatores. Em meios com restrições de água, a maioria das lipases catalisam reações reversíveis como esterificação e interesterificação (transesterificação, alcoólise e acidólise). Em presença de água, catalisam a hidrólise de triacilgliceróis, entre outras reações.

Devido ao comportamento das lipases do tipo encaixe induzido, elas podem converter um número significativo de substratos artificiais, que naturalmente não têm a estrutura dos triacilgliceróis (FABER, 2011).

Assim, as lipases estão entre os biocatalisadores mais importantes utilizados em reações químicas tanto meios aquosos e não aquosos. O motivo de sua importância deve-se principalmente à sua capacidade de utilizar um amplo espectro de substratos, além de sua robustez para operar dentro de uma ampla gama de temperatura, pH e solventes orgânicos, e suas quimio, regio e enantioselectividades (DE CASTRO et al., 2004).

As lipases podem ser usadas na forma de livre, imobilizada ou células integras. Nos dois primeiros casos, as enzimas são produzidas por cultivo submerso, recuperada e purificada antes da utilização. Diferentes microrganismos como *Rhizopus oryzae*, *Candida antarctica*, *Mucor miehei*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, entre muitos outros, são usados para produção de lipases (KIRAN et al., 2016).

Na forma solúvel (enzima livre) tem a vantagem de baixo custo devido ao procedimento de preparação relativamente simples. No entanto, podem ser usadas uma vez só devido a inativação. As células íntegras que sintetizam lipases intracelularmente podem ser utilizadas como biocatalisadores, resultando em baixos custos, fungos filamentosos de *Aspegillus sp.* e *Rhizopus sp.* têm sido altamente estudados. Porém, problemas de transferência de massa dos substratos e produtos, tem limitado os avanços no uso (MEUNIER; KARIMINIA; LEGGE, 2017).

Em contraste, existe um interesse considerável na imobilização das lipases para a produção de ésteres de ácidos graxos, como por exemplo o biodiesel e os biolubrificantes, porque a imobilização melhora a estabilidade térmica e química dos catalisadores e facilita a recuperação e reutilização da enzima, que por sua vez diminui os custos associados à enzima (MEHTA; BODH; GUPTA, 2017).

Uma série de técnicas têm sido descritos para a imobilização de lipases. Estes métodos podem ser categorizados, conforme com o tipo de ligação entre o suporte e a enzima em adsorção, ligação covalente, ligação cruzada e encapsulação em diferentes matrizes (MEUNIER; KARIMINIA; LEGGE, 2017).

As características desejadas estão diretamente relacionadas às potenciais aplicações industriais, como a resistência mecânica, estabilidade química e física, caráter hidrofóbico, capacidade de carga de enzima e custo para cada aplicação. Adicionalmente, as propriedades da enzima imobilizada dependem das propriedades tanto da enzima como do suporte, a interação entre esses dois componentes define suas propriedades químicas, bioquímicas,

mecânicas e cinéticas (TACIAS-PASCACIO et al., 2017).

Desse modo, grande variedade de materiais naturais e sintéticas com diferentes características de tamanho, forma, porosidade, hidrofobicidade e densidade tem sido testadas para a imobilização de lipases (CAZABAN; WILSON; BETANCOR, 2016). Os suportes mais recomendado para a imobilização das lipases para seu subsequente uso como biocatalisadores em reações de transesterificação de óleos e gorduras, são os copolímeros hidrofóbicos microporosos de estireno de divinilbenzeno (STY-DVB), polipropileno, Sepharose (VILLENEUVE et al., 2000), sílica funcionalizada com organosilanos entre outros (CIPOLATTI et al., 2017).

No mercado uma grande variedade de lipases imobilizadas pode ser adquirida, por exemplo, lipases de *Candida antarctica* lipase B (Novozym® 435), lipase de *Thermomyces lanuginosus* (Lipozyme® TL-IM), *Rhizomucor miehei* (Lipozyme® RM-IM) e *Burkholderia cepacia* (Lipase PS-IM).

A Novozym® 435 é a lipase comercial imobilizada mais comumente utilizada na produção de ésteres (biodiesel) e é produzida por adsorção sobre uma resina acrílica e tem-se várias referências do uso de esta enzima usando diferentes fontes lipídicas, como óleo de palma, de soja, de colza, óleos residuais, assim como vários aceptores de acila como metanol, etanol e álcoois secundários, mostrando altas conversões (AMINI et al., 2017). Ésteres lubrificantes tem sido sintetizados através de transesterificação enzimática de óleos de palma e palmiste com álcool oleílico usando Lipozyme RM IM como catalisador (ABDELMOEZ; MUSTAFA, 2014).

Entretanto, com o aumento dos suportes e as técnicas de imobilização, outras enzimas comerciais têm mostrado bons resultados em diferentes processos, por exemplo a biocompatibilidade do precursor silano com tetraetilortossilicato e o álcool polivinílico tem sido testado com sucesso na imobilização de diferentes lipases como *Pseudomonas fluorescens* (AMINI et al., 2017) e *Burkholderia cepacia* (CARVALHO et al., 2013). Neste caso, foram obtidas conversões de biodiesel acima de 95%, usando óleos não comestíveis.

A lipase de *Burkholderia cepacia* é uma enzima extracelular, e é um dos biocatalisadores mais utilizadas em processos biotecnológicos. O seu uso estendido é devido à sua capacidade de aproveitar grande variedade de substratos, resistência térmica e tolerância a múltiplos solventes. É uma cadeia polipeptídica de 320 aminoácidos residuais com uma massa molar de 33.128 Da (SASSO et al., 2016). Exibe uma elevada atividade hidrolítica em relação aos triacilgliceróis, independentemente do comprimento da cadeia dos ácidos graxos e é uma enzima não específica (SÁNCHEZ; TONETTO; FERREIRA, 2017).

A temperatura ótima para esta lipase foi reportada em 50 °C, porém mantém sua atividade ainda aos 75°C.

Em sua forma livre geralmente tem baixa estabilidade e sua recuperação é complexa, tornando praticamente impossível reutilizar. Assim, a imobilização não só pode melhorar a sua estabilidade, mas também permitir a sua recuperação e reutilização. A lipase de *B. cepacia* já foi imobilizada no suporte híbrido de polissiloxano álcool polivinílico (DE FREITAS et al., 2010). Na catálise de reações de transesterificação de óleos, Freitas, Da Rós, Santos, e de Castro (2009), estudaram a síntese de biodiesel por etanolise do óleo de babaçu, entre outros trabalhos.

A lipase de *Pseudomonas fluorescens*, é uma enzima alcalina extracelular, não específica, com temperatura e pH ótimos de operação de 55 °C e 8, respectivamente. Têm sido usada imobilizada em SiO₂-PVA, na produção de biodiesel usando óleo de jatropha, palma, obtendo até 98% de conversão (DORS et al., 2012; FREITAS et al., 2009; MOREIRA et al., 2007).

2.2.3 Biorreatores usados na produção de ésteres por transesterificação de óleos vegetais

Os reatores de tanque agitado, são os mais simples e baratos porém, são mais usados em fermentações aeróbicas que com biocatalisadores imobilizados devido à forte agitação que pode danificar o biocatalisador devido a força de cisalhamento, limitando o número de vezes que a enzima pode ser usada (TRAN; CHANG; LEE, 2017).

Assim, como alternativa à transesterificação de óleos vegetais em reatores de tanque agitado em modo contínuo, os reatores de leito fixo têm cobrado importância. Um reator de leito fixo consiste em uma coluna recheada de partículas biocatalíticas que permanecem estacionárias. Os reagentes fluem continuamente através da coluna e não é necessária a separação do biocatalisador do produto da reação. A alta densidade de catalisador ajuda a atingir altas conversões de substrato. Além disso, minimizam as limitações de difusão das enzimas imobilizadas porque garante uma mistura adequada do meio de reação no catalisador, melhorando assim a transferência de massa externa.

Os reatores de leito fixo têm a configuração de reator mais simples para alcançar um alto grau de contato entre as partículas sólidas de catalisador e os substratos líquidos. As enzimas imobilizadas podem ser recuperadas e reutilizadas facilmente, aumentando a viabilidade do processo contínuo.

No entanto, o tempo de meia-vida do biocatalisador é um fator limitante devido à

impossibilidade de interromper o processo e trocar frequentemente as partículas de catalisador. Deve-se ter cuidado para garantir que o catalisador tenha uma longa vida útil no reator para que ele possa funcionar continuamente com pouca manutenção. Tem se desenvolvido vários trabalhos usando reatores de leito fixo usando enzimas comerciais como a Novozym® 435 (ROYON et al., 2007), lipases de *P. fluorescens* imobilizada (DORS et al., 2012), sem uso de solventes obtendo altas conversões tanto para a produção de biodiesel (ésteres metílicos e etílicos).

Outra opção aos reatores agitados, são os reatores de leito fluidizado que são preenchidos com o catalisador particulado e o substrato forçado a fluir através do leito. Embora, os leitos fluidizados sejam vantajosos, a retenção das partículas de biocatalisador é um desafio se a viscosidade do substrato for alta (MEUNIER; KARIMINIA; LEGGE, 2017).

Quadro 2.10-Resumo de processos de transesterificação enzimática para a produção de ésteres de óleos vegetais usando regime contínuo

Álcool	Razão molar (óleo: álcool)	Biocatalisador	Tipo de óleo ou gordura	Condições reacionais	Referência
Butílico	1:12	Lipase de Carica papaya	Óleo de soja	Tempo espacial: 40 min Reator: leito fixo Temperatura: 55°C Solvente: isento Conversão: 96%	(SU; WEI, 2014)
Etílico	1:12	Novozym 435	Óleo de babaçu	Tempo espacial: 8 horas Reator: leito fixo com remoção de glicerol. Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: 98,1%	(FIDALGO et al., 2016)
Etílico	1:12	Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em SiO ₂ -PVA	Óleo de babaçu	Tempo espacial: 11 horas Reator: leito fixo Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: 96%	(SIMÕES et al., 2015)
Metílico	1:6	Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em nano partículas de Fe ₃ O ₄	Óleo de soja	Tempo de residência: 192 horas Reator: leito fixo Temperatura: 40°C Solvente: n-Hexano Conversão: 88%	(WANG et al., 2011)

Continua

Etílico	1:12	Lipases de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em SiO ₂ -PVA	Óleo de macaúba	Tempo espacial: 16 horas Reator: leito fixo com remoção de glicerol. Temperatura: 50°C Solvente: isento Conversão: 96,3%	(RAMOS et al., 2017)
Butílico	1:5	Novozym 435	Óleo de girassol	Tempo de total:10 dias Reator: reator de leito fixo Temperatura:60°C Solvente: tert-butanol Conversão: 96,5%	(SÉVERAC et al., 2011)
Butílico	1:3	Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> , imobilizada em nanofibras de poliacrilonitrila	Óleo de colza	Tempo de total:20 dias Reator: reator de leito fixo Temperatura:40°C Solvente: tert-butanol Conversão: 94%	(SAKAI et al., 2010)

Fonte: autoria própria

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Matérias-primas

Os álcoois usados foram álcool etílico anidro (99%, Cromoline), álcool butílico normal (99,5%, Merck), álcool isoamílico (99%, Cromoline).

Em todos os experimentos foi usado óleo de palmiste refinado, extraído da amêndoa do fruto da palmeira oleaginosa *Elaeis guineenses*, por prensagem mecânica sem uso de solventes e em seguida refinado. O óleo de palmiste foi doado pela Agropalma (Pará), com as características físico-químicas descritas na Tabela 3.1:

Tabela 3.1- Características físico-químicas do óleo de palmiste refinado

Atributos	Limites
Acidez (% de ácido láurico)	$\leq 0,05$
Índice de peróxidos (mEq/kg)	$\leq 1,0$
Cor (Lovibond Red 5 ¼)	$\leq 2,0$
Ponto de fusão (°C)	26-30
Índice de iodo (Wijjs)	16-21
Fósforo (ppm)	$\leq 3,0$
Rancimat 130 °C (h)	$\geq 7,0$
Sabor/Odor	Neutro
Índice de saponificação (mg/g)	230-254

Fonte: Grupo Agropalma

3.2 Biocatalisadores

Os experimentos foram realizados empregando as lipases comerciais: lipase microbiana de *Burkholderia cepacia* e *Pseudomonas fluorescens*, manufaturadas pela Amano Farmacêutica (Nagoya, Japão) e adquiridas na forma de extrato enzimático em pó da Sigma-Aldrich. As duas lipases foram posteriormente imobilizadas em matriz híbrida (SiO₂- β-ciclodextrina ou SiO₂- hidroxietilcelulose) preparadas pela técnica sol-gel.

3.3 Outros reagentes

Para a realização dos experimentos também foram usados os reagentes que se listam a continuação:

Quadro 3.1-Outros reagentes usados no desenvolvimento da metodologia experimental

Reagente	Pureza	Fornecedor
Acetato de etila	99,5%	Cromoline
Acetona	min. 99,5%	Cromoline
Acetonitrila	Grau HPLC ($\geq 99,9\%$)	Merck
Ácido cáprico	P. A.	Sigma
Ácido caprílico	$\geq 98\%$	Aldrich Chemistry
Ácido clorídrico	37%	FMIA
Ácido esteárico	P. A.	Merck
Ácido láurico	98%	Cromoline
Ácido mirístico	97%	Merck
Ácido oleico	P. A.	Vetec
Ácido palmítico	96%	Merck
Anilina lipossolúvel	Puro	Glitter Industrial
Azeite de oliva	Comercial	Carbonell
Biftalato de potássio	99,5%	Cromoline
Cloreto de sódio	99,5%	Química Moderna
Cloreto de tionila	$\geq 99,0\%$, destilado	Aldrich Chemistry
Epicloridrina	99%	Cromoline
Álcool etílico	95%	Cromoline
Éter etílico	98%	Synth
Fenolftaleína	P. A.	Dinâmica
Fosfato de potássio monobásico	min.99%	Synth
Fosfato de sódio monobásico anidro	min. 99%	Synth
Goma arábica em pó	100%	Synth
Heptano	95%	Cromoline
Hexano	65%	Cromoline
Hexanol	98%	Merck
Hidróxido de potássio	min. 85%	Cromoline
Hidróxido de sódio	min. 97%	Isosfar
Hidroxietil celulose (HEC)	Puro	Sigma
Álcool isobutílico	99%	Synth
Lewatit® GF 202	Puro	Lenntech
Álcool metílico	Grau HPLC (99,95%)	J. T. Baker
Polietilenoglicol (PEG)	1500 U.S. P	Synth
Solução triofluoreto de boro em álcool metílico	10% (w/w)	Fluka
Sulfato de sódio anidro	99%	Cromoline
Tetraetilortosilicato (TEOS)	98%	Aldrich Chemistry
β -ciclodextrina cristalina	97%	Sigma

Fonte: autoria própria

3.4 Equipamentos

A continuação se descrevem os equipamentos e configurações usadas para o desenvolvimento dos diferentes ensaios e análises deste trabalho.

3.4.1 Sistemas reacionais

3.4.1.1 Biorreator de tanque agitado

Para as reações de transesterificação em regime descontínuo foi usado um reator encamisado de 70 mL, aquecido a 45°C, por meio de um banho termostatizado, com agitação magnética e condensador em espiral, usando a configuração apresentada no esquema da Figura 3.1.

Figura 3.1-Sistema usado nas reações em regime descontínuo

Fonte: autoria própria.

3.4.1.2 Biorreator de leito fixo

Foi usada coluna de vidro encamisada (14 mm de diâmetro interno, 210 mm de altura e 32 mL volume) empacotada com 21 g de lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC e a temperatura de 45 °C mantida por meio banho de circulação termostatizado. Para evitar perda do biocatalisador, no fundo da coluna foi colocada uma tela metálica (Figura 3.2).

Figura 3.2-Coluna empacotada com enzima imobilizada

Fonte: autoria própria

O esquema usado na produção dos ésteres etílicos, butílicos e isoamílicos em regime contínuo é apresentado na Figura 3.3, composto por um tanque de alimentação (1) de 400 mL encamisado, mantido a uma temperatura de 45 °C usando um banho termostático (7) e agitação (2), contendo o meio reacional. A alimentação do meio reacional foi efetuada por meio de uma bomba peristáltica (4) fluxo ascendente, através da coluna empacotada (5).

Figura 3.3-Sistema usado nas reações em regime contínuo

Fonte: autoria própria

As especificações dos equipamentos usados estão descritas nos Quadros 3.2 e 3.3.

Quadro 3.2-Principais equipamentos utilizados

Tipo de análise e/ou ensaio	Equipamento	Modelo/fabricante
Teor de umidade	Balança analítica acoplada com infravermelho	Modelo ID 50, Marte®
Dosagem de ésteres	Cromatógrafo de fase gasosa	Modelo GC-3800, Varian
Dosagem de MAG e DAG	Cromatógrafo de fase líquida (CLAE)	Modelo Agilent 1200, Agilent Technologies
Densidade dos ésteres obtidos	Densímetro digital	Modelo DMA 35N EX, Anton Paar
Medidas de absorbância	Espectrofotômetro UV-Visível	Modelo Cary 50 Conc, Varian
Secagem de suporte	Estufa de secagem	Modelo TE-393/2, Tecnal
Redução de tamanho do suporte	Moinho	MA048 Marconi
Estabilidade oxidativa	Oxidation Stability Tester	RapidOxy, Anton Paar
Medida de pH	Potenciômetro	Modelo TEC2, Tecnal
Caracterização de padrões e teor de ésteres	RMN ¹ H	Modelo Mercury 300MHz, Varian
Purificação de ésteres	Rotaevaporador	Modelo 801, Fisatom
Índice de viscosidade	Stabinger Viscometer	SVM™ 3001, Anton Paar
Teor de água	Titulador automático Karl Fischer	Modelo AKF 5000, Koehler Instrument Company, Inc.
Viscosidade dos ésteres obtidos	Viscosímetro	Modelo LVDVIIIICP-CP 520, Brookfield

Fonte: autoria própria

Quadro 3.3-Outros equipamentos usados

Equipamento	Modelo/fabricante
Aquecedor	AB1000 Britânica
Balança analítica	Modelo SHIMADZU
Banho Maria Dudnoff	Marconi
Banho termostatizado	Banho Ultratermostato Criostato
Bomba de vácuo	Modelo RV3, BOC Edwards
Bomba peristáltica	Bomba Peristáltica SJ-1211L Atto
Centrífuga	Modelo 206 BL, Excelsa® II
Peneiras	Bronxinox malha 40 -60 mesh
Placa de agitação	Modelo 752 Fisatom

Fonte: autoria própria

3.5 Metodologia Experimental

Os ensaios deste trabalho foram efetuados, de acordo com os procedimentos experimentais e métodos analíticos descritos a seguir.

3.5.1 Síntese dos suportes híbridos e imobilização das lipases

Os compostos híbridos de polissiloxano- β -ciclodextrina (SiO_2 - β CD) e polissiloxano-Hidroxietilcelulose (SiO_2 -HEC) foram sintetizados misturando 50 mL de tetraetilortossilicato (TEOS), 50 mL de álcool etílico 95% e 60 mL de solução de β -ciclodextrina ou hidroxietil celulose 2% (w/v). Essa mistura foi aquecida a 60 °C, sob agitação, com adição de 1mL de ácido clorídrico concentrado, e incubado por 40 min. Após este tempo a mistura foi vertida em moldes e deixado à temperatura ambiente por 48 horas (MARTIN, 2015). O sólido obtido foi triturado em moinho elétrico e classificado em peneiras malhas Tyler 42 – 60 mesh.

Posteriormente, a fração do suporte retida na malha Tyler 60 mesh foi ativada com uma solução de epícloridrina 2,5% (v/v), em tampão fosfato de sódio ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ e pH 7,5), na proporção de 1g de suporte para 10 mL de solução (MARTIN, 2015). Após a homogeneização, a mistura foi mantida sob agitação por 1 hora à temperatura ambiente e em seguida submetida à filtração a vácuo em um funil de Buchner revestido com papel de filtro (diâmetro 28 μm) para retirar o excesso de umidade. Durante o processo de filtração o suporte foi lavado repetidamente com água destilada e solução tampão fosfato e em seguida levado à estufa a 60 °C por 24 horas.

Os suportes ativados (SiO_2 - β CD e SiO_2 -HEC) foram imersos em hexano numa proporção de 1: 10 por um período de 2 horas. Em seguida, a enzima (*B. cepacia* ou *P. fluorescens*) foi adicionada ao suporte (250 miligramas por grama suporte), juntamente com 100 μL de solução aquosa de 5 mg mL^{-1} de polietilenoglicol (MM 1500). A mistura foi mantida sob agitação suave por 2 horas, seguida de contato estático por 24 h a 4°C (CARVALHO, 2011). A lipase imobilizada foi recuperada por filtração a vácuo e o sistema imobilizado lavado com hexano. A lipase imobilizada foi submetida a secagem em dessecador à vácuo, até atingir umidade inferior a 10%.

3.5.2 Parâmetros operacionais do sistema contínuo

Para a operação da montagem experimental usado na produção dos ésteres em regime contínuo, foram necessários inicialmente uma série de testes operacionais como a calibração da bomba peristáltica de alimentação do meio reacional, distribuição do tempo de residência (DTR) e tempo espacial. A caracterização do reator de leito fixo permitiu o aprimoramento das condições reacionais.

3.5.2.1 Calibração da bomba peristáltica

A calibração da bomba peristáltica foi efetuada nas condições selecionadas para realizar as reações de transesterificação: sistema reacional, temperatura e meio reacional.

Utilizando tubo Marprene #12, foram construídas curvas de calibração mediante o ajuste manual dos diferentes níveis de rotação da bomba para obter as vazões requeridas nos diferentes ensaios, cronometrando-se o tempo para coletar um volume determinado.

3.5.2.2 Distribuição do tempo de residência (DTR)

A função DTR descreve quantitativamente o tempo que o meio reacional permanece no reator de leito fixo e foi determinada pelo teste de traçador usando corante lipossolúvel injetado em pulso. Para tanto, inicialmente foi efetuada a varredura de frequências em espectrofotômetro (Varian modelo Cary 50) na faixa de luz UV-visível de uma solução de 1,5% de corante, nos diferentes meios reacionais usados e diluída 1000 vezes em álcool isobutílico, para determinar o comprimento de onda no qual a absorbância era máxima. Em seguida, foram construídas curvas de calibração da absorbância em função da concentração de traçador (SIMÕES et al., 2015).

Os ensaios de DTR foram realizados no reator do esquema de produção dos ésteres com aproximadamente 21 gramas de lipase imobilizada em SiO₂-HEC inativada por aquecimento em estufa a 100 °C por 24h. O reator foi alimentado com os meios reacionais numa vazão de 0,11 mL.min⁻¹ (tempo espacial= 3h) a 45 °C. Após dois tempos espaciais, foram injetados 0,5 gramas de corante lipossolúvel com ajuda de uma seringa e amostras foram coletadas a cada 30 min até não ser mais detectado coloração na saída do reator (10 h aproximadamente), considerando como tempo inicial o momento da injeção do traçador. As amostras foram analisadas em espectrofotômetro UV e as concentrações de corante na saída do reator foram calculadas usando as equações obtidas na curva de calibração.

Com os dados obtidos foi construído um gráfico de concentração versus tempo para determinar a DTR ou $E(t)$ de acordo com a Equação (3.1), sendo $C(t)$ a concentração de corante (g.mL^{-1}) para o tempo $t(\text{h})$ (LEVENSPIEL, 2000). O denominador da equação foi calculado com ajuda do software OriginPro 8 SR0 v8.0724 (B724).

$$E(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t)dt} \quad (3.1)$$

Conhecendo a $E(t)$ para cada tempo medido, foi calculado o tempo médio de residência (t_m) sendo o mesmo tempo espacial (τ) resolvendo a Equação 3.2.

$$\tau = t_m = \int_0^{\infty} t \cdot E(t)dt \quad (3.2)$$

Para a caracterização completa da DTR foram determinados ainda dois momentos: a dispersão da distribuição em torno da média, variância ou quadrado do desvio padrão (σ^2) calculada usando a seguinte equação:

$$\sigma^2 = \int_0^{\infty} (t - t_m)^2 E(t)dt \quad (3.3)$$

A extensão da assimetria da distribuição em uma direção ou outra em relação à média (skewnees) (FOGLER, 2009) foi calculada por meio da Equação (3.4).

$$s^3 = \frac{1}{\sigma^{3/2}} \int_0^{\infty} (t - t_m)^3 E(t)dt \quad (3.4)$$

O coeficiente de variação (Cv) que relaciona o desvio padrão com o tempo médio de residência e fornece a medida relativa ou espalhamento da DTR, foi determinado pela equação (3.5) (HARRIS; DAVIDSON; THORPE, 2003)

$$Cv = \frac{\sigma}{t_m} \quad (3.5)$$

Conhecendo-se os diferentes momentos da DTR foi possível também determinar o número de CSTRs, n , em série equivalente ao reator de leito fixo não ideal com a Equação (3.6):

$$n = \frac{\tau^2}{\sigma^2} \quad (3.6)$$

3.5.3 Síntese dos ésteres biolubrificantes em regime descontínuo e contínuo

As reações de transesterificação enzimática do óleo de palmiste com álcool etílico, álcool butílico, álcool isoamílico e a mistura de álcoois simulando a composição do óleo fúsel foram realizadas em reatores de tanque agitado operando em regime descontínuo e reator de leito fixo operando em fluxo contínuo.

As reações de transesterificação em regime descontínuo foram realizadas usando o sistema descrito na Figura 3.1. As condições de reação são resumidas na Tabela 3.2 com relação ao tipo de catalisador usado, bem como razão molar entre óleo e os diferentes álcoois usados: etílico, butílico, isoamílico e uma mistura contendo os álcoois mais representativos e em proporções semelhantes do óleo fúsel (óleo fúsel simulado=10% álcool butílico, 78,2% álcool isoamílico e 11,2% álcool etílico). Todas as reações foram efetuadas a 45 °C por 72h. A massa do meio reacional foi mantida fixa em 40 g e a massa de lipase (*B. cepacia* ou *P. fluorescens*) adicionada foi a necessária para obter 500 unidades de atividade por cada grama de óleo sendo equivalente a aproximadamente a 20% (m.m⁻¹) de catalisador por meio reacional.

Tabela 3.2-Álcoois, razões molares e biocatalisadores testados nas reações de transesterificação de óleo de palmiste em regime descontínuo

Tipo de álcool	Lipase	Razão molar Óleo: álcool	Suporte
Etílico	<i>B. cepacia</i>	1:6	SiO ₂ -βCD
		1:8	
		1:10	
		1:12	
	<i>P. fluorescens</i>	1:4	
		1:6	
		1:8	
		1:12	
Butílico	<i>B. cepacia</i>	1:4	SiO ₂ -HEC
	<i>P. fluorescens</i>	1:6	
		1:8	
		1:12	
Isoamílico	<i>B. cepacia</i>	1:4	
	<i>P. fluorescens</i>	1:6	
Óleo fúsel simulado	<i>B. cepacia</i>	1:4	
	<i>P. fluorescens</i>	1:6	

Fonte: autoria própria

Para as reações em regime contínuo em reator de leito fixo foram realizadas usando o sistema descrito anteriormente na Figura 3.3, testando a condições apresentadas na Tabela

3.3. O sistema foi operado em fluxo contínuo ascendente por aproximadamente 20 dias com reposição diária de meio reacional no tanque de alimentação, os produtos foram coletados e analisados.

Tabela 3.3-Condições de reação testados em regime contínuo

Enzima	Álcool	Razão molar óleo: álcool	Vazão (ml.h ⁻¹)	Tempo espacial (h)
Lipase de <i>B. cepacia</i> imobilizada em SiO₂-HEC	Etílico	1:6	1,7-2,1-2,6	12-10-8
		1:8	2,6-2,1-1,7	8-10-12
	Butílico	1:6	2,1-2,6-3,5	10-8-6
		1:8	3,5-2,6-2,1	6-8-10
	Isoamílico	1:4	5,2-3,5-2,6	4-6-8
		1:6	2,6-3,5-5,2	8-6-4
	Óleo fúsel simulado	1:4	5,2-3,5-2,6	4-6-8
		1:6	2,6-3,5-5,2	8-6-4

Fonte: autoria própria

3.5.4 Purificação dos produtos da reação

Para a separação do glicerol formado na síntese dos ésteres, o meio reacional foi submetido a lavagens sucessivas com água destilada. Em cada lavagem, foi utilizado aproximadamente o mesmo volume de água em relação ao volume de amostra. A mistura foi transferida para um funil de decantação, agitada e deixada em repouso por 2 h para a separação das fases (fase superior rica em ésteres de ácido graxo e a fase inferior glicerol e água de lavagem). A fase inferior foi descartada e a fase superior submetida à centrifugação (3200 rpm /15 min) e posteriormente à evaporação em rota-evaporador (90 °C por 30 min) para a retirada de traços de álcool e água remanescentes. Para finalizar a etapa de secagem, pequenas quantidades de sulfato de sódio anidro foram adicionadas ao produto foi armazenado em frascos de vidro para a posterior quantificação de mono e diacilgliceróis, determinação da viscosidade cinemática, densidade, índice de viscosidade e estabilidade oxidativa.

3.5.5 Métodos de análise

3.5.5.1 Densidade da enzima imobilizada

A densidade do recheio da coluna foi determinada em um balão volumétrico aferido com água à temperatura ambiente. Colocou-se uma massa conhecida do sólido em balão de 50 mL e volume completado com água, o sistema foi submetido a vácuo para eliminar o ar contido nos espaços intra e interpartícula. Completou-se o volume do balão volumétrico com água, sendo o volume ocupado pelo sólido obtido por diferença após preencher o balão. A densidade foi calculada como a relação entre a massa e o volume ocupado pelo sólido segundo a Equação 3.8 (SIMÕES et al., 2015).

$$\rho_w = \frac{\text{massa de enzima imobilizada}}{\text{Volume do balão} - \text{Volume de água}} \quad (3.8)$$

3.5.5.2 Teor de umidade das enzimas imobilizadas

A determinação do teor de umidade das enzimas imobilizadas foi feita medindo-se a perda de massa do material após secagem de uma quantidade conhecida (0,1 g) em balança analítica acoplada com infravermelho durante 15 min a 100 °C.

3.5.5.3 Determinação da atividade hidrolítica

A atividade hidrolítica da enzima imobilizada foi determinada pela reação de hidrólise do azeite de oliva, de acordo com metodologia descrita por SOARES et al., 1999. Os ácidos graxos livres liberados na reação foram titulados com solução de KOH (0,025 mol. L⁻¹) utilizando fenolftaleína como indicador.

A unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima que libera 1 μmol de ácido graxo por minuto de reação, nas condições de teste. As atividades foram calculadas de acordo com a Equação 3.9 e expressa em μmol. g⁻¹.min⁻¹ (U/g).

$$A = \frac{(V_a - V_b) \cdot M \cdot 1000}{t \cdot m} \quad (3.9)$$

Em que:

V_a = volume de KOH gasto na titulação da amostra, V_b = volume do KOH gasto na titulação do branco, M = concentração da solução de KOH, t = tempo de reação em min, m = massa seca de amostra, em gramas.

3.5.5.4 Teor de ácidos graxos do óleo de palmiste

A composição em ácidos graxos do óleo de palmiste usado foi determinada por preparação de ésteres metílicos de ácidos graxos Ce 2-66 (AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY, 2004a) e quantificação por cromatografia em fase gasosa. Uma massa de aproximadamente 250 mg de óleo de palmiste foi pesada em um balão de 100 mL de fundo redondo, seguida da adição de 5 mL de solução alcoólica de hidróxido de sódio (NaOH) em álcool metílico 0,5 mol. L⁻¹. O balão foi conectado a um condensador de refluxo e o sistema (Figura 3.4) foi aquecido a 60 °C, sob agitação, por 10 min. Após esse período foram adicionados 5 mL da solução de triofluoreto de boro em álcool metílico (10%) e o sistema mantido em ebulição por 2 min. Na sequência, 5 mL de heptano foram adicionados ao sistema através do condensador e decorrido 1 minuto de ebulição, o aquecimento foi desligado mantendo-se o sistema sob agitação constante. Através do condensador foram adicionados 15 mL da solução saturada de cloreto de sódio (NaCl) e a mistura agitada 15 segundos, seguida da adição de solução saturada de Cloreto de sódio em volume suficiente para o sobrenadante alcançar o gargalo do balão. 1 mL do sobrenadante foi transferido para um vial cromatográfico e em seguida 0,20 g de sulfato de sódio anidro (Na₂SO₄) adicionado para retirar a umidade da amostra. Transcorridos 10 minutos foi adicionado heptano suficiente até completar o volume do vial cromatográfico e a amostra injetada diretamente no cromatógrafo a gás.

Figura 3.4-Sistema usado para metilação de ácidos graxos

Fonte: autoria própria.

3.5.5.5 Quantificação dos ésteres

Os ésteres formados foram quantificados em cromatógrafo a gás (Modelo Varian CG 3800, Inc. Corporate Headquarters, Palo Alto, CA, USA) equipado com detector de chama ionizante e coluna empacotada de aço inoxidável do tipo 5% DEGS CHR-WHP 80-100 mesh 6 ft 2.0 mm ID e 1/8" OD (Restek, Frankel Commerce of Analytic Instruments Ltda, SP, Brasil).

Para a quantificação dos ésteres etílicos foi usado método anteriormente desenvolvido (URIESTE et al., 2008) cujas as condições são apresentadas no Quadro 3.4.

Quadro 3.4-Condições de operação do método de dosagem de ésteres etílicos

Padrão interno	Hexanol (15 g.L⁻¹)
Rampa de temperaturas	90°C (3min), 120°C (10 min) e 170°C (15 min)
Taxa de aquecimento	25 °C.min ⁻¹
Gás de arraste	Nitrogênio (25 mL.min ⁻¹)
Diluição da amostra	1:3 (amostra - hexano)
Injeção da amostra diluída	1:1 (amostra - padrão interno)
Tempo total de análise	35 min

Fonte: autoria própria

Para a quantificação dos ésteres butílicos e isoamílicos os métodos foram implementados, sendo ainda necessário sintetizar os padrões cromatográficos por rota química usando os ésteres derivados dos ácidos graxos característicos do óleo de palmiste.

3.5.5.6 Síntese dos padrões de ésteres butílicos e isoamílicos

A síntese química dos padrões foi feita em duas etapas, empregando-se os ácidos carboxílicos, os álcoois e cloreto de tionila (SOCl₂). A primeira reação foi realizada para a obtenção do cloreto de acila usando os ácidos carboxílicos e o cloreto de tionila em excesso, após um tempo de reação de 4h o excesso de cloreto de tionila foi evaporado e o álcool (butílico ou isoamílico) adicionado para iniciar a segunda reação sendo a esterificação do cloreto de acila com o correspondente álcool (Figura 3.5). A purificação do padrão foi feita por destilação fracionada da mistura reacional obtida da segunda reação. As estruturas dos ésteres foram analisadas por ressonância magnética nuclear de próton. Cada espectro foi avaliado calculando-se a integração dos números relativos de hidrogênios presentes na estrutura química do monoéster de ácido (URIESTE et al., 2008).

3.5.5.7 Implementação dos métodos para quantificação de ésteres butílicos e isoamílicos

Inicialmente foram estabelecidas as condições para a determinação do tempo de retenção dos diferentes padrões de ésteres, avaliando a separação dos picos e tempo de análise. Como padrão interno foi selecionado hexanol numa concentração de 10 g.L⁻¹. Posteriormente, foram preparadas soluções dos padrões dos ésteres para quatro níveis de concentrações iniciando com a mínima concentração esperada no caso de uma conversão baixa da transesterificação do óleo de palmiste com álcool butílico ou isoamílico, até um nível de conversão máxima.

A construção da curva de calibração foi realizada, a partir, de injeções sistemáticas dos padrões misturados com o padrão interno, na proporção de 1:1; a partir dos cromatogramas obtidos e dos dados gerados pelo software Galaxie Chromatography Data System versão 1.9. Finalmente, foram realizados dois testes de recuperação de massa injetada para validação do método.

Figura 3.5-Síntese química dos padrões cromatográficos de ésteres butílicos e isoamílicos

Fonte: autoria própria

3.5.5.8. Índice de acidez e quantificação de ácidos graxos livres

Foram pesadas aproximadamente 0.3 g das amostras de ésteres não purificadas em um Erlenmeyer de 125 mL e adicionados 10 mL de éter etílico em álcool etílico (95%) (proporção 2:1 em volume). A mistura foi titulada com KOH 0,01 mol.L⁻¹ utilizando fenolftaleína como indicador. Como controle (branco) foi usado 25 mL da mistura éter etílico e álcool etílico sem adição da amostra.

O índice de acidez foi definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) necessários para neutralizar os ácidos livres presentes em um grama de óleo (Equação 3.10). A porcentagem de ácidos graxos livres (Equação 3.11) foi expressa como massa de ácidos graxos livres em relação ao ácido láurico, predominante na amostra (AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY, 2004).

$$\text{Índice de acidez (mgKOH)} = \frac{(V_{\text{amostra}} - V_{\text{branco}}) \cdot MM_{\text{base}} \cdot C_{\text{base}}}{m_{\text{amostra}}} \quad (3.10)$$

$$\%AGL = \frac{(V_{\text{amostra}} - V_{\text{branco}}) \cdot MM_{\text{ácido láurico}} \cdot C_{\text{base}} \cdot 100}{m_{\text{amostra}}} \quad (3.11)$$

Em que:

V_{amostra} = Volume de solução de KOH gasto na titulação da amostra (mL)

V_{branco} = Volume de solução de KOH gasto na titulação do branco (mL)

MM_{base} = Massa molar do KOH (56.1 g.mol⁻¹);

C_{base} = Concentração molar da solução de KOH (mol.L⁻¹)

$MM_{\text{ácido láurico}}$ = Massa molar do ácido láurico (200.32 g.mol⁻¹)

m_{amostra} = Massa da amostra (g)

3.5.5.9 Teor de água

O teor de água dos produtos das reações de transesterificação em porcentagem, foi determinado pelo método Karl Fischer, empregando titulador automático Karl Fisher, Modelo AKF 5000, Koehler Instrument Company, Inc.

3.5.5.10 Caracterização dos monoésteres de ácidos graxos por RMN ¹H

As estruturas dos ésteres obtidos por via química foram confirmadas pela análise de Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN ¹H). Os espectros foram obtidos no aparelho Varian modelo Mercury 300 MHz. Os deslocamentos químicos (δ) foram

referenciados pelo sinal do TMS (Tetra-metil-silano - $d = 0$) em solvente $CDCl_3$. Cada espectro foi analisado calculando-se a integração dos números relativos de hidrogênio presente na estrutura química do monoéster de ácido em 0,00-6,00 ppm.

3.5.5.11 Quantificação de mono e diacilgliceróis

Mono e diacilgliceróis foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), em equipamento Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, Inc. SP, Brasil), com detector evaporativo de espalhamento de luz e coluna de aço inoxidável Fenomenex Gemini C18 110 A (150 por 4,6 mm) (Allcrom, Ltd., SP, Brasil), nas seguintes condições: temperatura da coluna de 40 °C e do detector de 70 °C.

As fases móveis utilizadas foram: acetonitrila e álcool metílico numa proporção de 80% e 20%. A taxa de fluxo de 1 mL. min⁻¹ foi mantida durante os 6 primeiros minutos; 1,5 mL.min⁻¹ durante os 24 minutos seguintes e 3,0 mL.min⁻¹ durante os 5 minutos restantes para um tempo total de análise de 35 min. As amostras purificadas foram dissolvidas em acetato de etila-hexano (1:1, v/v) e os teores de mono e diacilgliceróis calculados.

3.5.5.12 Viscosidade cinemática

Os valores da viscosidade absoluta em função da taxa de deformação são viscosímetro Brookfield Modelo LVDVII empregando o cone cP 42 a 40 °C. A viscosidade cinemática (mm²/s) é a razão entre a viscosidade absoluta (cP) e a densidade do biodiesel (g. mL⁻¹). Foram analisadas as viscosidades do óleo de palmiste e das amostras obtidas nas reações de transesterificação usando os diferentes álcoois.

3.5.5.13 Densidade

Os valores de densidade do óleo de palmiste e dos ésteres obtidos foram determinados utilizando um densímetro digital Modelo DMA 35n EX (Anton Paar). As medidas foram feitas a 20 °C, empregando-se 2,0 mL da amostra.

3.5.5.14 Índice de viscosidade (IV)

Os índices de viscosidade do óleo de palmiste e das amostras foram determinados em equipamento apropriado (Viscodensímetro SVMTM 3001) que efetua medida das viscosidades em diferentes temperaturas (40 °C e 100 °C) seguindo a norma ASTM D7042,

e por meio do software fornece o índice de viscosidade propriamente dito usando o método ASTM D 2270.

3.5.5.15 Estabilidade oxidativa (EO)

A estabilidade oxidativa do óleo de palmiste e dos produtos das reações de transesterificação foi determinada usando o equipamento RapidOxy da Anton Paar, que acelera artificialmente o processo de oxidação usando o incremento de temperatura e pressão do oxigênio até um ponto de quebra onde o material começa a oxidar, em este ponto a pressão começa a descer, indicando consumo de oxigênio. Não é necessária preparação especial das amostras e o resultado é dado como período de indução que corresponde ao lapso de tempo desde que a pressão começa a cair e uma queda de pressão do 10% da pressão inicial. As condições de pressão e temperatura foram de 700 kPa e 140°C. A medição foi baseada nas normas ASTM D7525, ASTM D7545, EN 16091 e IP 595.

3.6 Cálculos

3.6.1 Tempo espacial (τ)

O tempo espacial da mistura reacional dentro do reator foi calculado usando as equações 3.12, 3.13 e 3.14 (LEVENSPIEL, 2000).

$$\tau = \frac{V}{v_o} \quad (3.12)$$

$$V = V_{reator} - V_{catalizador} \quad (3.13)$$

$$V_{catalizador} = \frac{w}{\rho_w} \quad (3.14)$$

Sendo τ o tempo espacial, V o volume útil do reator, v_o a vazão volumétrica na coluna, V_{reator} o volume total do reator, $V_{catalizador}$ o volume ocupado pelo biocatalisador na coluna, w a massa do biocatalisador e ρ_w a densidade do biocatalisador.

3.6.2 Produtividade

As produtividades foram definidas e calculada para as reações de transesterificação em regime descontínuo e contínuo de acordo com as Equações 3.15 e 3.16 respectivamente:

$$P_d = \frac{C}{t} \quad (3.15)$$

Em que: P_d = produtividade processo descontínuo (g éster.g meio⁻¹.h⁻¹); C = concentração de ésteres à saída do reator (g éster/gmeio); t = tempo reacional.

$$P_c = \frac{C \cdot Q \cdot \rho}{M_{cat}} \quad (3.16)$$

Em que: P_c = produtividade processo contínuo (g éster. g catalisador⁻¹.h⁻¹); C = concentração de ésteres à saída do reator (g éster/gmeio); Q = vazão de coleta de produto (mL/h), ρ = densidade do meio na saída do reator (gmeio/mL); M_{cat} = massa de catalisador (g cat).

3.6.3 Tempo de meia-vida da enzima imobilizada

A constante de desativação do biocatalisador (k_d) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) foram calculados com as Equações 3.17 e 3.18, respectivamente.

$$\frac{A}{A_0} = e^{-k_d \cdot t} \quad (3.17)$$

$$t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (3.18)$$

Em que: A_0 e A são as atividades hidrolítica inicial e residual, respectivamente, da enzima imobilizada.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos durante o desenvolvimento do presente trabalho. Os experimentos foram realizados de acordo com o esquema da Figura 4.1, para melhor orientação e compreensão dos resultados.

Figura 4.1-Esquema geral da metodologia experimental

Fonte: autoria própria

4.1 Estabelecimento dos métodos de quantificação dos ésteres butílicos e isoamílicos

4.1.1 Síntese dos padrões de ésteres butílicos e isoamílicos

Para a quantificação dos ésteres formados na transesterificação do óleo de palmiste com álcool butílico e isoamílico, foi necessário, inicialmente, sintetizar os ésteres dos ácidos graxos constituintes do óleo de palmiste em qualidade de padrões cromatográficos. A síntese foi efetuada por via química seguindo a metodologia do item 3.5.5.6. Os ésteres foram purificados por destilação fracionada à pressão reduzida e a estrutura química comprovada por ressonância magnética nuclear de próton (RMN H^{+1}). No Quadro 4.1 é apresentada a relação dos ésteres sintetizados.

Quadro 4.1-Ésteres sintetizados por via química

Ácido graxo	Carbono: Insaturação	Éster	
		Butílicos	Isoamílicos
Octanoico	C8:0	$C_{12}H_{24}O_2$	$C_{13}H_{26}O_2$
Decanoico	C10:0	$C_{14}H_{28}O_2$	$C_{15}H_{30}O_2$
Láurico	C12:0	$C_{16}H_{32}O_2$	$C_{17}H_{34}O_2$
Mirístico	C14:0	$C_{18}H_{36}O_2$	$C_{19}H_{38}O_2$
Palmítico	C16:0	$C_{20}H_{40}O_2$	$C_{21}H_{42}O_2$
Esteárico	C18:0	$C_{22}H_{44}O_2$	$C_{23}H_{46}O_2$
Oleico	C18:1	$C_{22}H_{42}O_2$	$C_{23}H_{44}O_2$

Fonte: autoria própria

4.1.1.1 Caracterização dos ésteres padrões por RMN H^1

As estruturas dos ésteres purificados foram confirmadas por Ressonância Magnética Nuclear de Próton (RMN H^1), como descrito em 3.5.5.10. Nas Figuras 4.2 e 4.3 apresentam-se os espectros de RMN H^1 ($CDCl_3$, d, 300Hz) obtidos para os ésteres octanoato butila e octanoato de isoamila. Ésteres de butila obtidos quimicamente e usados como padrões já tinham sido caracterizados anteriormente (URIESTE et al., 2008). Os espectros dos ésteres de isoamila são mostrados no Apêndice A.

Nos Quadro 4.2 e 4.3 os sinais de deslocamentos são identificados, sendo confirmada a estrutura química de cada composto de acordo ao número de hidrogênios. Em todas as estruturas o número de hidrogênio obtido foi igual ao número esperado. Quanto aos ésteres de butila, verifica-se similaridade aos descritos anteriormente por Urioste et al. (2008).

Figura 4.2-Espectro de RMN H^1 (4,5-0,5 ppm) do octanoato de butila obtido a 300Hz com $CDCl_3$

Fonte: autoria própria, dados gerados usando o software ACD/Spectrus Processor 2017.1.2.

Figura 4.3-Espectro de RMN H^1 (4,5-0,5 ppm) do octanoato de isoamila obtido a 300Hz com $CDCl_3$

Fonte: autoria própria, dados gerados usando o software ACD/Spectrus Processor 2017.1.2.

Quadro 4.2-Análise dos espectros obtidos por RMN H^1 300 MHz, Chloroform-d para os padrões de ésteres butílicos

Ésteres butílicos	Estrutura
$C_{12}H_{24}O_2$	δ ppm 0.76 - 0.99 (m, 6 H) 1.18 - 1.47 (m, 10 H) 1.60 (br d, $J=6.74$ Hz, 4 H) 2.28 (t, $J=7.62$ Hz, 2 H) 4.05 (t, $J=6.59$ Hz, 2H)
$C_{14}H_{28}O_2$	δ ppm 0.76 - 1.02 (m, 6 H) 1.19 - 1.75 (m, 18 H) 2.28 (t, $J=7.62$ Hz, 2 H) 4.06 (t, $J=6.74$ Hz, 2 H)
$C_{16}H_{32}O_2$	δ ppm 0.92 (s, 6 H) 1.25 (s, 22 H) 2.14 - 2.34 (m, 2 H) 4.06 (t, $J=6.74$ Hz, 2H)
$C_{18}H_{36}O_2$	δ ppm 0.81 - 1.07 (m, 6 H) 1.24 (s, 22 H) 1.53 - 1.67 (m, 4 H) 2.23 - 2.39 (m, 2 H) 4.06 (t, $J=6.59$ Hz, 2 H)
$C_{20}H_{40}O_2$	δ ppm 0.93 (s, 6 H) 1.17 - 1.38 (m, 26 H) 1.57 - 1.69 (m, 4 H) 2.28 (t, $J=7.47$ Hz, 2 H) 4.06 (t, $J=6.59$ Hz, 2 H)
$C_{22}H_{44}O_2$	δ ppm 0.81 - 1.02 (m, 6 H) 1.17 - 1.44 (m, 30 H) 1.60 (s, 4 H) 2.26 (d, $J=7.62$ Hz, 2 H) 4.01 - 4.11 (m, 2H)
$C_{22}H_{42}O_2$	δ ppm 0.79 - 0.97 (m, 6 H) 1.19 - 1.76 (m, 28 H) 2.20 - 2.40 (m, 4 H) 3.64 (s, 1 H) 4.05 (t, $J=6.59$ Hz, 2 H) 5.26 - 5.40 (m, 1 H)

Fonte: autoria própria, análise gerada usando o software ACD/Spectrus Processor 2017.1.2 e ACD/ChemSketch 2017.1.2

Quadro 4.3-Análise dos espectros obtidos por RMN H^1 300 MHz, Chloroform-d para os padrões de ésteres isoamílicos

Ésteres isoamílicos	Estrutura
$C_{13}H_{26}O_2$	δ ppm 0.82 - 0.95 (m, 9 H) 1.25 - 1.75 (m, 13 H) 2.27 (t, $J=7.47$ Hz, 2 H) 4.08 (t, $J=6.89$ Hz, 2 H)
$C_{15}H_{30}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.45$ Hz, 9 H) 1.22 - 1.32 (m, 12 H) 1.46 - 1.70 (m, 5 H) 2.24 - 2.30 (m, 2 H) 4.08 (s, 2 H)
$C_{17}H_{34}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.45$ Hz, 9 H) 1.25 (s, 16 H) 1.46 - 1.75 (m, 5 H) 2.26 (d, $J=7.91$ Hz, 2 H) 4.08 (t, $J=6.89$ Hz, 2 H)
$C_{19}H_{38}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.45$ Hz, 9 H) 1.24 (s, 20 H) 1.45 - 1.71 (m, 5 H) 2.27 (t, $J=7.47$ Hz, 2 H) 4.03 - 4.12 (m, 2 H)
$C_{21}H_{42}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.74$ Hz, 9 H) 1.24 (s, 24 H) 1.46 - 1.73 (m, 5 H) 2.23 - 2.35 (m, 2 H) 4.09 (t, $J=6.89$ Hz, 2 H)
$C_{23}H_{46}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.45$ Hz, 9 H) 1.25 (s, 28 H) 1.47 - 1.63 (m, 5 H) 2.28 (s, 2 H) 4.05 - 4.13 (m, 2 H)
$C_{23}H_{44}O_2$	δ ppm 0.91 (d, $J=6.45$ Hz, 9 H) 1.28 (br d, $J=9.96$ Hz, 20 H) 1.51 (d, $J=7.03$ Hz, 5 H) 2.00 (br d, $J=5.86$ Hz, 4 H) 2.28 (t, $J=7.47$ Hz, 2 H) 4.09 (t, $J=6.89$ Hz, 2 H) 5.31 - 5.40 (m, 2 H)

Fonte: autoria própria, análise gerada usando o software ACD/Spectrus Processor 2017.1.2 e ACD/ChemSketch 2017.1.2.

4.1.2 Métodos cromatográficos para quantificação dos ésteres de butílicos e isoamílicos

As condições de operação do cromatógrafo foram estabelecidas para quantificação dos teores individuais de cada éster formado nas reações de transesterificação do óleo de palmiste com butanol e isopentanol, conforme apresentado no Quadro 4.4.

Quadro 4.4-Condições de operação do cromatógrafo e parâmetros dos métodos de quantificação dos ésteres butílicos e isoamílicos

Condição	Ésteres de butila	Ésteres de isoamila
Padrão interno	Hexanol (10 g.L ⁻¹)	Hexanol (10 g.L ⁻¹)
Rampa de temperaturas	90°C (2 min), 150°C (11 min) e 180°C (9 min)	90°C (2 min), 150°C (5 min) e 180°C (15 min)
Taxa de aquecimento	30 °C.min ⁻¹	30 °C.min ⁻¹
Gás de arraste	Nitrogênio (25 mL.min ⁻¹)	Nitrogênio (25 mL.min ⁻¹)
Diluição da amostra	1:3 (amostra - hexano)	1:3 (amostra - hexano)
Injeção da amostra diluída	1:1 (amostra - padrão interno)	1:1 (amostra - padrão interno)
Tempo total de análise	25 min	25 min
Tempos de retenção		
PI	1,37 min	1,48 min
C8:0	3,39 min	3,77 min
C10:0	4,37 min	4,75 min
C12:0	5,91 min	7,00 min
C14:0	9,04 min	9,89 min
C16:0	15,59 min	12,19 min
C18:0	18,40 min	15,54 min
C18:1	18,74 min	15,60 min

Fonte: autoria própria

As curvas de calibração foram implementadas usando as concentrações apresentadas na Tabela 4.1 e os cromatogramas resultantes das injeções sucessivas são mostrados na Figura 4.4.

Tabela 4.1-Concentrações preparadas dos ésteres para construção da curva de calibração para ésteres de butila e isoamila

Padrão	Nível 1 (g.L ⁻¹)	Nível 2 (g.L ⁻¹)	Nível 3 (g.L ⁻¹)	Nível 4 (g.L ⁻¹)
Ésteres de butila				
Caprilato de butila	2,72	5,95	11,85	17,85
Decanoato de butila	2,12	7,05	11,10	18,1
Laurato de butila	36,42	81,35	132,05	146,05
Miristato de butila	12,06	28,16	41,65	54,35
Palmitato de butila	6,62	12,00	27,00	33,45
Estearato de butila	2,26	5,80	6,35	13,1
Oleato de butila	11,98	27,00	42,00	48,09
Ésteres de isoamila				
Caprilato de isoamila	2,34	8,96	12,18	16,2
Decanoato de isoamila	2,5	9,88	10,44	12,58
Laurato de isoamila	35,24	100,36	128,24	155,12
Miristato de isoamila	12,78	34,56	47,54	52,28
Palmitato de isoamila	8,44	17,44	22,26	28,08
Estearato de isoamila	2,54	5,86	5,66	8,34
Oleato de isoamila	10,74	32,38	42,32	51,72

Fonte: autoria própria

Figura 4.4a-Cromatogramas das injeções dos 4 níveis de concentração dos ésteres de butila, usados para a calibração dos métodos cromatográficos

Fonte:autoria própria

Figura 4.5b-Cromatogramas das injeções dos 4 níveis de concentração dos ésteres de isoamila, usados para a calibração dos métodos cromatográficos

Fonte: autoria própria

A eficiência dos métodos foi verificada em ensaios de recuperação, sendo injetada uma mistura de padrões de concentração conhecida e a diferença entre concentração resultante pela aplicação do método e a injetada foi cromatogramas e os resultados dos cromatogramas obtidos (Tabela 4.2).

Tabela 4.2-Testes de validação dos métodos cromatográficos para dosagem dos ésteres de butila e isoamila

Éster de butila	Concentração injetada (g.mL ⁻¹)	Concentração recuperada (g.mL ⁻¹)	Recuperação média (%)
C8:0	3,83	3,78±0,01	98,56±0,18
C10:0	4,83	4,77±0,03	98,76±0,59
C12:0	6,51	6,44±0,06	98,85±0,98
C14:0	10,10	9,91±0,03	98,12±0,28
C16:0	12,35	12,26±0,10	99,27±0,8
C18:0	16,02	15,56±0,03	97,13±0,18
C18:1	16,65	15,61±0,04	93,72±0,21
Éster de isoamila	Concentração injetada (g.mL ⁻¹)	Concentração recuperada (g.mL ⁻¹)	Recuperação média (%)
C8:0	6,86	6,74±0,12	98,18±1,75
C10:0	5,02	4,62±0,13	92,03±2,54
C12:0	73,68	68,57±0,72	93,06±0,98
C14:0	25,06	24,51±0,69	97,79±2,74
C16:0	12,38	12,09±0,05	97,62±0,40
C18:0	2,96	2,49±0,06	84,12±1,91
C18:1	23,08	22,14±0,69	95,93±3,00

Fonte: autoria própria

Os testes de validação foram satisfatórios e garantiram a viabilidade da aplicação dos métodos estabelecidos para quantificação dos produtos das reações de transesterificação

usando butanol e isoamílico. Os estearatos e oleatos tanto de butila como de isoamila foram os compostos que apresentaram porcentagens mais baixas de recuperação, devido a limitação da coluna em separar ésteres de cadeia de carbono iguais (C18:0 e C18:1).

4.2 Caracterização do óleo de palmiste

As principais características do óleo de palmiste foram determinadas e os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.3 segundo os procedimentos descritos na metodologia.

Tabela 4.3-Propriedades do óleo de palmiste

Propriedade	Valor
Viscosidade cinemática a 40 °C	30,13 mm ² .s ⁻¹
Viscosidade dinâmica a 40 °C	27,28 cP
Densidade a 40 °C	0,9054 g.cm ⁻³
Índice de Viscosidade (IV)	176,02
Densidade API a 15 °C	922,5 kg. m ⁻³
Estabilidade oxidativa por tempo de indução	78,6 min

Fonte: autoria própria

4.2.1 Teor de ácidos graxos do óleo de palmiste

O cromatograma da análise dos ésteres metílicos por cromatografia gasosa (Figura 4.5) obtida pela metilação do óleo de palmiste é apresentado na Tabela 4.4. Segundo os resultados obtidos, o óleo de palmiste tem composição em ácidos graxos de C8 a C18, com altos teores de ácido láurico e oleico.

Figura 4.6-Cromatograma dos ésteres obtidos por metilação do óleo de palmiste

Fonte: autoria própria

Tabela 4.4-Composição em ácidos graxos do óleo de palmiste

Ácido graxo	(m/m) %	Ácido graxo	(m/m) %
Caprílico	3,79	Palmítico	6,67
Cáprico	3,23	Estearíco	2,87
Láurico	42,04	Oleico	25,91
Mirístico	12,40	Linoleico	3,08

Fonte: autoria própria

Os valores obtidos estão dentro das faixas informadas pelo fabricante e confirmam dados descritos na literatura (SANTOS et al., 2013), entretanto o resultado pontual das proporções de cada ácido graxo é importante para verificar a conversão de cada ácido graxo em éster.

4.3 Características dos suportes sintetizados

É importante destacar que o trabalho experimental foi iniciado usando a matriz SiO_2 - β CD, entretanto devido ao elevado custo do composto ciclodextrina, a continuidade do desenvolvimento experimental foi efetuada com a matriz SiO_2 -HEC. Entretanto, esse fato não interferiu na qualidade dos dados, tendo em vista que as propriedades estruturais dessas matrizes são similares, conforme ilustrado na Tabela 4.5.

Tabela 4.5-Principais propriedades dos suportes híbridos SiO₂-βCD e SiO₂ -HEC

Suporte	Área superficial (m ² . g ⁻¹)	Volume específico dos poros (cm ³ .g ⁻¹)	Diâmetro médio dos poros (Å)
SiO ₂ -βCD	450,5	0,3614	32,087
SiO ₂ -HEC	490,5	0,3522	28,718

Fonte: Adaptada de Martin, 2015

4.3 Atividade hidrolítica dos biocatalisadores preparados

Para a realização dos experimentos, as lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* foram imobilizadas em SiO₂-βCD e SiO₂-HEC resultando em derivados imobilizados com atividades hidrolíticas variando entre 1700 e 2300 U.g⁻¹. A umidade dos derivados enzimáticos foi mantida em 5%, sendo este valor o mínimo recomendado para garantir atividade da enzima no meio orgânico e evitar o favorecimento da reação inversa (DENG et al., 2005).

4.4 Síntese dos ésteres biolubrificantes em regime descontínuo

O efeito do tamanho da cadeia do álcool na formação dos ésteres, bem como influência da razão molar óleo para álcool foi investigada em ensaios conduzidos em reator agitado operando em regime descontínuo, como descrito no item 3.5.3. Como aceptores do grupo acila foram usados os álcoois (etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado) e as reações foram mediadas pelas lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas nos suportes SiO₂-βCD e SiO₂-HEC. O monitoramento das reações foi efetuado em termos de ésteres formados em função do tempo de reação. O produto obtido foi purificado e submetido às análises para qualificação de qualidade, incluindo viscosidade e teores de glicerídeos residuais.

4.4.1 Síntese de ésteres de etila em regime descontínuo

Foram realizadas reações de transesterificação do óleo de palmiste com álcool etílico comoceptor de acila, catalisadas pelas lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂-βCD. As razões molares testadas para cada biocatalisador estão indicadas na Tabela 4.6.

Tabela 4.6-Razões molares testadas nos ensaios realizados usando etanol e as lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂-βCD

Lipase	Razão Molar Óleo: Etanol	Lipase	Razão Molar Óleo: Etanol
<i>B. cepacia</i>	1:6	<i>P. fluorescens</i>	1:4
	1:8		1:6
	1:10		1:8
	1:12		

Fonte: autoria própria

O progresso da reação foi monitorado pela formação dos ésteres com base nos dados obtidos por cromatografia em fase gasosa, os resultados são apresentados nas Figuras 4.6 e 4.7.

A observação das Figuras 4.6a e 4.6b revela comportamento similar da ação das lipases testadas na transesterificação do óleo de palmiste utilizando diferentes proporções de etanol. Para a lipase de *B. cepacia* (Figura 4.6a) não foi verificado efeito marcante da quantidade de etanol na conversão dos triacilgliceróis em ésteres de etila, sendo obtido entre 48 a 72 h valores superiores a 98% para todos os meios reacionais testados (razão molar óleo: etanol de 1:6 até 1:12).

Entretanto, verifica-se que a quantidade de etanol exerceu pequena influencia no progresso da reação nas primeiras 24 h, sendo a velocidade de reação mais lenta constatada em meios reacionais contendo grande excesso de etanol (razão molar óleo: etanol de 1:10 e 1:12). Este comportamento pode ser relacionado a inibição ou perda de atividade da enzima devido ao excesso de álcool, sendo esse efeito observado em outros trabalhos reportados na literatura (TOFTGAARD PEDERSEN et al., 2014; KOUTEU et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2014).

Figura 4.7-Influência da razão molar na formação de ésteres de etila utilizando lipase de *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em $\text{SiO}_2\text{-}\beta\text{CD}$

(a) *B. cepacia* imobilizada em $\text{SiO}_2\text{-}\beta\text{CD}$

(b) *P. fluorescens* imobilizada em $\text{SiO}_2\text{-}\beta\text{CD}$

Fonte: autoria própria

Outro fato que pode ter afetado a conversão em ésteres é referente a imiscibilidade do óleo no etanol, sendo necessária aumentar a velocidade de agitação do sistema, danificando mecanicamente do biocatalisador. Além disso, grande excesso do etanol pode promover dispersão mais estável entre os ésteres e o glicerol limitando a separação dos ésteres, prejudicando a qualidade do biodiesel final obtido e/ou incrementando o tempo da etapa de purificação (DA SILVA et al., 2015).

Com relação a lipase *P. fluorescens* o mesmo comportamento foi verificado ao obtido pela lipase de *B. cepacia* para meios reacionais nas razões molares de óleo :etanol de 1:6 e 1:8, com velocidades de reação iniciais baixas atingindo conversões menores que 75% nas primeiras 24h, entretanto alcançando conversões praticamente totais entre 48 e 72 h. Por outro lado, o menor excesso de etanol (razão molar óleo: álcool de 1:4) foi insuficiente para a atuação da lipase para converter o óleo em éster de etila provavelmente devido a insolubilidade do etanol nessas proporções ou devido a insuficiente energia liberada pelo etanol ao se ligar ao sítio ativo da enzima para permitir a alteração na conformação da lipase (KOUTEU et al., 2017).

Com relação à formação dos ésteres de etila constata-se correspondência com os ácidos graxos presentes no óleo de palmiste, principalmente para os ésteres de laurato e oleato de etila, que são os ácidos graxos presentes em maior proporção (Figura 4.7a e 4.7b).

Figura 4.8-Perfil de formação dos ésteres na transesterificação do óleo de palmiste com etanol em diferentes razões molares usando lipases *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO₂- β CD para 24h, 48h e 72h de reação.

Fonte: autoria própria

Todos os ácidos graxos foram convertidos na mesma velocidade, sem mostrar especificidade, o que pode ser explicado pelo caráter não específico das enzimas testadas. Para ambas as lipases a razão molar óleo: etanol de 1:6 foi a mais adequada para proporcionar elevada formação de ésteres etílicos com elevada qualidade, como mostrado na Figura 4.8

(a, b) que apresenta os teores de glicerídeos (monoacilgliceróis-MAGs e diacilgliceróis-DAGs) quantificados por cromatografia líquida de alta eficiência, bem como viscosidade e densidade.

O teor de glicerol foi calculado por balanços de massa e os valores obtidos se encontram na Tabela 4.7, tomando por base os teores de éster, foi calculada a produtividade para as enzimas usadas para cada razão molar testada.

Figura 4.9-Qualidade em termos de teor de glicerídeos residuais (MAG e DAG, eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres de etila obtidos em 72 h de reação usando as lipases *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO_2 - β CD

Fonte: autoria própria

Para a função de lubrificantes não há um valor pontual para a viscosidade ou densidade, tendo em vista que os lubrificantes são classificados de acordo com uso proposto tomando por base a viscosidade (SCHIRRU, 2017). Entretanto, para aplicação dos ésteres de etila como biocombustível, os resultados podem ser avaliados com base nas especificações de qualidade segundo normas estipuladas pela ANP para o biodiesel, ou seja, viscosidade na faixa entre 3 a 6 $\text{mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e densidade entre 850 a 900 $\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}$.

Tabela 4.7-Desempenho das lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂-βCD na transesterificação do óleo de palmiste com etanol utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo: etanol (72h de reação)

Fonte: autoria própria

Lipase	RM	Conversão (%)	*Éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	MAG (m/m%)	DAG (m/m%)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster. g meio ⁻¹ .h ⁻¹)
<i>B. cepacia</i>	1:6	99,47	81,38	9,34	0,44	0,00	866,20	3,77	11,30
	1:8	98,90	73,74	8,47	0,41	0,00	880,00	4,08	10,24
	1:10	94,79	64,91	7,45	1,69	0,00	880,00	3,82	9,02
	1:12	94,67	59,94	6,88	0,91	1,50	880,00	4,83	8,32
<i>P. fluorescens</i>	1:4	20,44	18,53	2,13	2,73	26,91	910,00	9,43	2,57
	1:6	97,83	80,05	9,19	0,60	0,14	880,10	4,33	11,12
	1:8	99,10	73,89	8,62	1,96	0,00	880,26	4,66	10,26

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de meio reacional).

Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

Em relação a viscosidade verifica-se que com exceção do produto obtido na reação utilizando substrato na razão molar óleo: etanol de 1:4 mediada pela lipase *P. fluorescens* ($9,43 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), todas as outras reações forneceram amostras com propriedades que atendem as normas da ANP (viscosidade entre $3,77$ a $4,66 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ e densidade entre $880,00$ a $866,20 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-3}$).

Quanto aos teores residuais de MAGs e DAGs os baixos valores confirmam as elevadas conversões obtidas responsáveis pelos baixos valores de viscosidade.

Para ambas as lipases a condição mais adequada foi fornecida pelo meio reacional na razão molar óleo: etanol de 1:6. Nessas condições foram obtidas produtividades volumétrica da ordem de $11 \text{ mg ester} \cdot \text{g meio}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, elevado teor de éster ($>98\%$) e baixos valores de glicerídeos (MAGs+DAGs) residuais ($<1,00\%$).

4.4.2 Síntese de ésteres de butila em regime descontínuo

Tendo como referência os ensaios realizados com etanol, nas reações de transesterificação com butanol foram testados meios reacionais nas razões molares óleo de palmiste: álcool de 1:4, 1:6 e 1:8, utilizando as lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO_2 -HEC como biocatalisadores. O progresso das reações foi quantificado por amostragens (24 h de intervalo) por um período máximo de 72 h (Figura 4.9).

Nessa série de ensaios foi constatado que elevadas conversões podem ser obtidas com menor excesso de álcool (razão molar óleo: álcool de 1:4) ou menor tempo de reação (elevadas conversões em 48h de reação), tanto para a lipase de *B. cepacia* como para a lipase de *P. fluorescens*. Esse comportamento pode ser justificado em função da redução da polaridade do álcool, que aumenta sua miscibilidade no óleo e melhora a homogeneidade do sistema reacional (HÁJEK et al., 2017). Desta forma, o uso de intensa agitação pode ser evitado favorecendo a manutenção da estrutura morfológica das partículas do biocatalisador durante do processo.

Figura 4.10-Influência da razão molar na formação de ésteres de butila utilizando lipase de *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO₂-HEC

(a) *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC

(b) *P. fluorescens* imobilizada em SiO₂-HEC

Fonte: autoria própria

Quanto a formação de ésteres (Figura 4.10a, e b) verifica-se que em 48 h de reação, ambas as lipases já forneceram elevada concentração, principalmente para os ésteres laurato e oleato de butila, como esperado devido a composição rica em ácidos graxos láurico e oleico do óleo de palmiste. Não foi identificada preferência das lipases por nenhum ácido graxo em especial.

Ao final da reação (72h) os ésteres de butila foram purificados e analisados segundo a metodologia descrita anteriormente. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.11 e Tabela 4.8, incluindo o teor de glicerol gerado na reação calculado por balanço de massa.

A elevada conversão em éster foi confirmada pelos resultados obtidos por cromatografia líquida, revelando baixos valores de MAG (< 1.1%) e ausência de DAG. Entretanto, os valores da viscosidade foram superiores aos obtidos para os ésteres de etila, o que pode ser explicado pelo aumento no tamanho da cadeia de carbonos do álcool (KNOTHE, 2005), contudo ainda dentro de valores na faixa especificada pela ANP para uso como combustível.

Figura 4.11-Perfil de formação dos ésteres de butila para cada ácido graxo a partir das reações de transesterificação do óleo de palmiste nas razões molares 1:4, 1:6 e 1:8 catalisadas pelas lipases *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO₂- HEC para 24h, 48h e 72h

Fonte: autoria própria

Figura 4.12-Qualidade dos ésteres de butila em termos de teor de MAG (eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres de butila ao final de 72 h de reação usando (a) lipase *B. cepacia* e (b) *P. fluorescens* para as razões molares de 1:4 e 1:6

Fonte: autoria própria

Para ambas as lipases, as produtividades calculadas em 72 h foram da ordem 11 mg ester.g meio⁻¹.h⁻¹. Entretanto, avaliando a conversão e as concentrações de glicerídeos residuais, verifica-se que o desempenho da *B. cepacia* foi ligeiramente superior ao obtido pela lipase *P. fluorescens*, com o estabelecimento das seguintes condições operacionais: razão molar óleo de palmiste: butanol de 1:6, 48 horas de reação, o que permitiu aumentar a produtividade volumétrica para 15,5mg ester.g meio⁻¹.h⁻¹.

Tabela 4.8-Desempenho das lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂- HEC, na transesterificação do óleo de palmiste com butanol utilizando diferentes razões molares (RM) do óleo e butanol para 72h de reação

Lipase	RM	Conversão (%)	*Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	**MAG (m/m%)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster. gmeio ⁻¹ .h ⁻¹)
<i>B. cepacia</i>	1:4	98,75	85,59	9,17	0,79	861,00	4,47	11,89
	1:6	99,14	74,49	7,98	0,31	883,00	5,13	10,35
	1:8	99,27	81,32	8,71	0,41	879,00	5,10	11,29
<i>P. fluorescens</i>	1:4	98,52	85,39	9,14	1,11	860,00	5,34	11,89
	1:6	99,04	74,41	7,97	0,72	880,00	4,56	10,35
	1:8	99,11	81,19	8,69	0,89	880,00	5,09	11,29

Fonte: autoria própria

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de meio reacional).

**Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

4.4.3 Síntese de ésteres de isoamila em regime descontinuo

Na sequência foram realizados testes empregando álcool isoamílico (presente em maior proporção no óleo fúsel) como aceitor de grupo acila nas razões molares óleo: álcool de 1:4 e 1:6, utilizando as lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂-HEC como biocatalisadores. Os resultados obtidos são apresentados nas Figuras 4.12. e 4.13.

Figura 4.13-Influência da razão molar na formação de ésteres de isoamila utilizando lipase de *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO₂-HEC

Fonte: autoria própria

Nos experimentos anteriores usando etanol e butanol como aceptores de acila foi verificado que o aumento da cadeia alifática do álcool promoveu elevadas conversões com menor excesso de álcool e em menor tempo de reação, confirmando dados descritos na literatura (MALHOTRA; MUKHERJEE; GUPTA, 2015).

Com relação ao teor de ésteres, a enzima não mostrou especificidade por nenhum ácido graxo sendo todos convertidos na mesma velocidade, obtendo total de éster (g de éster/g de amostra) superior aos obtidos com os outros álcoois. Verifica-se que a máxima formação dos ésteres foi obtida em 48h de reação, como ilustrado na Figura 4.13 (a, b). A exemplo das outras reações de transesterificação, os ésteres obtidos em maior proporção foram o laurato de isoamila e o oleato de isoamila.

Figura 4.14-Perfil de formação dos ésteres de isoamila a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando a lipase *B. cepacia* (a) e *P. fluorescens* (b) imobilizadas em SiO₂-HEC para 24h, 48h e 72h de reação e diferentes razões molares óleo: álcool

Fonte: autoria própria

Os ésteres de isoamila obtidos em 72h de reação foram purificados e analisados, e os resultados obtidos são apresentados na Figura 4.14 e Tabela 4.9, incluindo o teor de glicerol calculado por balanço de massa.

Em todas as condições testadas foram obtidos elevados teores de ésteres de isoamila, baixos teores de MAG ($<0.8\%$) e ausência de DAG. Os valores de viscosidade confirmaram o elevado grau de transesterificação do óleo de palmiste modificando sua viscosidade inicial de $30,13 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ para $\cong 5 \text{ mm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$.

Figura 4.15-Qualidade dos ésteres de isoamila em termos de teor de MAG (eixo da esquerda) e viscosidade cinemática (eixo da direita) dos ésteres ao final de 72 h de reação usando (a) lipase *B. cepacia* e (b) *P. fluorescens* nas razões molares de 1:4 e 1:6

Fonte: autoria própria

Na condição estabelecida (lipase de *B. cepacia* e razão molar de 1:4 e 48 h) a produtividade volumétrica foi da ordem de $20,8 \text{ mg ester.g meio}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, sendo superior que as produtividades obtidas para os ésteres de etila e butila.

Tabela 4.9-Desempenho das lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂- HEC, na transesterificação do óleo de palmiste e álcool isoamílico em regime descontínuo, utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo e álcool para 72h de reação.

Fonte: autoria própria

Lipase	RM	Conversão (%)	Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	MAG (m/m%)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster.g meio ⁻¹ .h ⁻¹)
<i>B. cepacia</i>	1:4	99,21	100	10,21	0,083	886,00	5,27	13,89
	1:6	99,41	93,64	9,56	0,080	881,00	4,69	13,01
<i>P. fluorescens</i>	1:4	99,75	100	10,21	0,097	883,00	4,74	13,89
	1:6	99,66	93,87	9,58	0,34	885,00	4,91	13,79

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de amostra meio reacional).

**Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

4.4.4 Síntese de ésteres usando óleo fúsel simulado em regime descontínuo

Nesta série de ensaios foi verificada a viabilidade de utilizar uma mistura dos álcoois anteriormente testados em proporção simulando óleo fúsel como acceptor do grupo acila. Para tanto foi preparado uma mistura de álcoois contendo: 11,2 % etanol, 10% butanol e 78,2% álcool isoamílico, denominada neste trabalho de óleo fúsel simulado. As reações de transesterificação foram catalisadas pelas lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂-HEC usando óleo fúsel simulado em meios reacionais nas razões molares óleo de palmiste: óleo fúsel simulado de 1:4 e 1:6 por um período máximo de 48h, tempo considerado adequado com base nos experimentos efetuados anteriormente. A formação de ésteres foi conferida qualitativamente usando RMN H¹ como apresentado na Figura 4.15.

O consumo dos triacilgliceróis foi evidenciado pelo desaparecimento do duplo quarteto para 4,30 e 4,15 ppm, característicos dos grupos CH₂ do glicerol e aparecimento de um quarteto para os ésteres etílicos e de um tripleto correspondentes aos ésteres butílicos e isoamílicos na região 4,0–4,5 ppm (DA SILVA et al., 2015). Verifica-se no espectro referente a mistura dos ésteres a superposição do quarteto com baixa intensidade e dos tripletos dos ésteres de butila e isoamila (Figura 15d). Devido a esta superposição não foi possível usar a técnica de RMN para determinar quantitativamente a conversão.

Figura 4.16-RMN H^1 do óleo de palmiste e dos ésteres de etila, butila, isoamila e do óleo fúsel simulado

Fonte: autoria própria, gerado usando o software ACD/Spectrus Processor 2017.1.2 e ACD/ChemSketch 2017.1.2.

A mesma limitação foi constatada na análise efetuada por cromatografia gasosa, tendo em vista que o produto formado é constituído por vinte e quatro ésteres (24) de características similares restringindo a separação e quantificação individual desses ésteres. A técnica adequada para execução desta análise complexa seria um GC massa, não disponível na instituição. Desta forma, os produtos resultantes das reações de transesterificação com óleo fúsel simulado foram purificados e analisados por cromatografia

líquida de alta eficiência, para determinar os teores residuais de MAGs e DAGs, bem como os valores de viscosidade e densidade, como apresentado na Tabela 4.10.

Tabela 4.10-Desempenho das lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em SiO₂- HEC, na transesterificação do óleo de palmiste com óleo fúsel simulado em regime descontínuo, utilizando diferentes razões molares (RM) de óleo de palmiste e óleo fúsel simulado após 48 h de reação.

Lipase	RM	**Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	**MAG (m/m%)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster.g meio ⁻¹ .h ⁻¹)
<i>B.</i>	1:4	99,57	10,39	0,43	862,00	4,59	20,74
<i>cepacia</i>	1:6	99,38	10,37	0,62	889,00	4,56	20,70
<i>P.</i>	1:4	99,49	10,39	0,50	871,00	4,72	20,73
<i>fluorescens</i>	1:6	99,59	10,40	0,41	897,00	4,64	20,75

Fonte: autoria própria

**Teores analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

Todas as condições testadas forneceram resultados satisfatórios na formação de ésteres com propriedades adequadas como baixa viscosidade e baixos teores de MAGs e ausência de DAGs. Com relação a viscosidade verifica-se que os valores foram inferiores aos produtos obtidos usando apenas com o álcool isoamílico, o que é plenamente justificável devido a presença de ésteres de etila na composição do produto final.

Como melhor condição para condução da reação de transesterificação do óleo palmiste com óleo fúsel simulado utilizando ambas as lipases, selecionou-se meios reacionais na razão molar de 1:4. Apesar dos meios reacionais preparados com maior excesso do aceptor do grupo acila (1:6) terem apresentado também qualidade adequada dos ésteres, um menor excesso de álcool é desejável para facilitar a etapa de purificação. Além da dificuldade da separação do glicerol dos ésteres (por lavagens com água), a etapa de eliminação do óleo fúsel simulado residual por evaporação necessita de temperatura mais elevada devido ao ponto de ebulição do álcool isoamílico (131°C). Este efeito foi também notado nos experimentos conduzidos apenas com álcool isoamílico, como descrito na literatura (MUSA, 2016).

4.4.5 Análise global na transesterificação em regime descontínuo do óleo de palmiste e os álcoois etanol, butanol, isoamílico e óleo fúsel simulado

Em geral, conversões completas ($\cong 100\%$) foram obtidas na maioria das reações. Com exceção da etanólise que requereu maior excesso de etanol (1:8) e tempo de reação mais longo (72h), os álcoois de maior tamanho de cadeia carbônica (butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado) foram utilizados em proporções perto da estequiometria. O comportamento da razão molar nas faixas testadas permitiu observar os efeitos positivos do aumento da polaridade e da cadeia de carbonos do álcool aumentando a miscibilidade dos triacilgliceróis e diminuindo os problemas de transferência de massa (MUSA, 2016; KOUTEU et al., 2017).

Com relação as lipases usadas tanto imobilizada em SiO_2 - β CD como em SiO_2 -HEC, não foram verificadas diferenças marcantes quanto a qualidade do produto final, porém a lipase de *B. cepacia*, apresentou melhor desempenho e maior velocidade inicial em relação a lipase *P. fluorescens*, esse resultado é consistente com os dados reportados na literatura (DENG et al., 2005).

Quanto ao teor de glicerol gerado nas reações como subproduto, a relação estequiométrica esperada é em média 10% do teor total de éster produzido. Como mostrado na Tabela 4.11 a quantidade de glicerol em porcentagem mássico foi reduzida com o aumento da cadeia do álcool em aproximadamente 6%.

Outro fato para ressaltar, é referente ao efeito surfactante dos álcoois por serem solúveis tanto na fase polar (glicerol) como na fase apolar (éster), assim, a cadeia de carbono do álcool é responsável por sua solubilidade nos ésteres. Desse modo, o grupo hidroxila exibe afinidade pelo glicerol, diminuindo a tensão superficial o suficiente para ocasionar emulsificação. Em conformidade com a regra de Traube, para uma série homóloga de surfactantes, a tensão superficial decresce por um fator de 3 por cada grupo CH_2 adicional (DA SILVA et al., 2015). Desta forma, o álcool butílico e isoamílico são surfactantes mais eficientes e causam a emulsificação do glicerol nos ésteres, dificultando a separação das fases sendo necessário implementar etapas adicionais de lavagem com água para a remoção do glicerol.

Tabela 4.11-Resumo do teor de glicerol para os teores de éster obtidos com cada álcool testado após 72h de reação em regime descontínuo

Éster	RM Óleo de palmiste: álcool	Teor de éster (m.m ⁻¹ %)	Glicerol (m.m ⁻¹ %)
Etila	1:4	80,72±0,94	9,26±0,11
	1:6	73,82±0,11	8,55±0,11
	1:8	62,43±3,51	7,16±0,40
Butila	1:10	18,53±0,00	2,13±0,00
	1:4	83,37±2,45	8,93±0,26
	1:6	74,45±0,06	7,98±0,01
Isoamila	1:4	100,00±0,00	10,21±0,00
	1:6	93,76±0,01	9,57±0,014
Óleo fúsel simulado	1:4	99,51±0,10	10,39±0,01

Fonte: autoria própria

No que concerne ao teor de MAG, os valores obtidos foram menores de 1% confirmando as conversões calculadas com base nos resultados da cromatografia gasosa. Teores de DAG só foram identificados nos ésteres de etila produto de reações com conversões inferiores a 94%.

Os valores da viscosidade foram consistentes com as conversões obtidas, para conversões próximas a 99% as viscosidades foram, respectivamente, de 4,22±0,63; 4,97±0,27; 4,90±0,26; 4,63±0,07 mm².s⁻¹; para os ésteres etílicos, butílicos, isoamílicos e de óleo fúsel simulado. Verifica-se ainda um incremento de 17% na viscosidade dos ésteres de butila e isoamila em relação à viscosidade dos ésteres etílicos. No caso dos ésteres obtidos com o óleo fúsel simulado, a viscosidade diminuiu 5% em relação aos ésteres de butila e isoamila, evidenciado pela presença dos ésteres etílicos.

4.5 Parâmetros operacionais do reator de leito fixo

Com os resultados obtidos em reatores operando em regime descontínuo e a revisão bibliográfica e analisando o efeito dos álcoois, a razão molar e o tempo reacional da transesterificação do óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado, foi selecionado o uso da lipase de *B. cepacia* para o desenvolvimento dos testes operando em regime contínuo visando aumentar a produtividade do processo. Nesta série de

experimentos foram determinadas as condições adequadas para cada par óleo de palmiste e álcool com relação a razão molar e tempos espaciais.

Inicialmente foram conduzidos testes operacionais para determinar a densidade do biocatalisador e calibrar a bomba peristáltica para cada meio reacional. Na sequência foram determinadas as características hidrodinâmica do reator por meio de teste de traçador injetado tipo pulso, incluído cálculos do tempo médio de residência, variância, coeficiente de assimetria, número de reatores agitados em série comparáveis ao reator de leito empacotado e tempo de meia-vida do derivado imobilizado.

Tanto nos testes operacionais e reações de transesterificação foi usado o sistema ilustrado na Figura 4.16, já descrito na metodologia, em fluxo ascendente, mantido na temperatura de 45 °C e lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC. Os meios reacionais testados foram óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado em diferentes razões molares alimentados ao reator em diferentes fluxos, conforme mostrado na Tabela 4.12.

Figura 4.17-Sistema experimental usado nos testes operacionais e nas reações de transesterificação em regime contínuo

Fonte: autoria própria

Tabela 4.12-Razões molares e tempos espaciais testados nos ensaios conduzidos em fluxo contínuo

Álcool	Razão molar Óleo: álcool	Tempo espacial (h)
Etanol	1:6	14-12-10-8
	1:8	8-10-12
Butanol	1:6	10-8-6
	1:8	6-8-10
Isoamílico	1:4	8-6-4
	1:6	4-6-8
Óleo fúsel	1:4	8-6-4
simulado	1:6	4-6-8

Fonte: autoria própria

4.5.1 Densidade da enzima imobilizada

A densidade do biocatalisador usado no empacotamento da coluna foi determinada de acordo com a metodologia descrita no item (3.5.5.1), obtendo-se o valor de $1,804 \pm 0,005$ g.cm⁻³, similar aos valores anteriormente calculados para biocatalisadores imobilizados em suportes híbridos preparado pela mesma técnica usada no presente trabalho (SIMÕES et al., 2015).

4.5.2 Calibração da bomba peristáltica

A calibração da bomba peristáltica foi feita usando tubo de marprene de diâmetro interno de 0,5 mm utilizando misturas de óleo de palmiste: álcoois nas condições reacionais propostas para operação do sistema reacional. A rotação do motor da bomba foi ajustada para atingir as vazões (v_0) correspondentes aos tempos espaciais (τ) de 4, 6, 8, 10, 12 e 14 h, calculados com as características da coluna empacotada e aplicando as equações descritas na metodologia. Os resultados obtidos são apresentados na Tabela 4.13.

Tabela 4.13-Calibração da bomba peristáltica

Volume do reator	32 mL	Volume do catalisador	11,1 mL
Massa do catalisador	20 g	Volume útil do reator	20,9 mL
τ (h)	v_0 (mL.h⁻¹)	τ (h)	v_0 (mL.h⁻¹)
4	5,2	10	2,1
6	3,5	12	1,7
8	2,6	14	1,5

Fonte: autoria própria

As vazões foram ajustadas variando o controle de rotação do motor da bomba até obter os valores desejados e marcadas para garantir esses valores durante todo o experimento, igualmente a vazão foi conferida todos os dias, mediante medição do volume recolhido em um determinado período de tempo.

4.5.3 Distribuição do tempo de residência (DTR)

4.5.3.1 Curva de calibração

Inicialmente foi feita a varredura de frequências no espectrofotômetro com os meios reacionais usados nas reações de transesterificação e o corante numa concentração de 1,5 m/m % diluído em isobutanol, obtendo uma longitude de onda de 645 nm, na qual a absorbância foi máxima.

Posteriormente foram construídas as curvas de calibração da concentração de traçador em função da absorbância a 645 nm, para tanto foram usados meios reacionais constituído de óleo de palmiste: etanol (1:8), óleo de palmiste: butanol (1:6), óleo de palmiste: álcool isoamílico (1:4) e óleo de palmiste: óleo fúsel simulado (1:6) e corante lipossolúvel azul na concentração de 1,5%, efetuando diluições sucessivas em isobutanol para obter amostras para construção da curva padrão contendo entre 0-0,015 g.L⁻¹ de corante. Na Figura 4.17 é mostrado o comportamento e o ajuste linear da concentração em função da absorbância para cada meio reacional, obtendo as equações da forma $y = a + bx$, em que y é a concentração do traçador e x a absorbância.

Figura 4.18-Curvas de calibração concentração vs absorvância para as misturas (a) óleo de palmiste: etanol, (b) óleo de palmiste: butanol, (c) óleo de palmiste: álcool isoamílico e (d) óleo de palmiste: óleo fúsel simulado

(a) óleo de palmiste: etanol

(a) Óleo de palmiste: butanol

(c) óleo de palmiste: álcool isoamílico

(d) óleo de palmiste: óleo fúsel simulado.

Fonte: autoria própria

4.5.3.2 Cálculo da Distribuição do Tempo de Residência (DTR)

A DTR proporciona informação sobre a operação de um reator refletindo claramente o tipo de mistura que ocorre no interior, podendo-se evidenciar problemas de escoamento como zonas de estagnação ou zonas mortas, divisão do leito, formação de canais, entre outros.

O sistema usado para a determinação da DTR foi o mesmo usado nos processos em fluxo regime contínuo, como especificado no item 3.5.2.2 da metodologia e ilustrado na Figura 4.18.

Figura 4.19-Sistema usado para os ensaios de teste traçador e distribuição do corante na coluna empacotada

Fonte: autoria própria

No caso dos reatores tubulares ideais os componentes permanecem o mesmo tempo em seu interior e a DTR é um pico de altura infinita e largura zero, sendo a área igual a 1 (FOGLER, 2009). Nessas condições ideais o tempo médio de residência (t_m) calculado em função da DTR, deve ser igual ao tempo espacial. No caso do sistema apresentar caminhos preferenciais ou zonas mortas no leito catalítico a diferença entre os valores teórico e prático aumenta.

No presente trabalho, a DTR foi determinada experimentalmente com perturbação tipo pulso, injetando na coluna empacotada com o biocatalisador, uma massa de corante lipossolúvel inerte (traçador) de aproximadamente 0,54 g para cada um dos meios reacionais (óleo de palmiste: álcool). A vazão foi fixada em $6,8 \text{ mL.h}^{-1}$ correspondendo a um tempo espacial de 3h e as leituras de absorvância foram efetuadas em amostras coletadas na saída do reator em intervalos de 30 min e correlacionadas com as curvas de concentração. Na Figura 4.19 são apresentadas as concentrações obtidas em função do tempo e a DTR. As concentrações obtidas para as misturas de álcool butílico, isoamílico e fúsel simulado são fornecidas no Apêndice B.

Figura 4.20-Concentrações do corante (1) e DTR (2) no reator de coluna empacotada com lipase imobilizada inativada para as misturas do óleo com álcool: (a) etílico, (b) butílico, (c) isoamílico e (d) óleo fúsel simulado

(a) óleo de palmiste: álcool etílico

(b) óleo de palmiste: álcool butílico

(d) óleo de palmiste: álcool isoamílico

(e) óleo de palmiste: óleo fúsel simulado

Fonte: autoria própria

Outros parâmetros como tempo médio de residência (t_m), a variância, assimetria da distribuição, coeficiente de variação (C_v) e o número de CSTRs (n) em série equivalente ao reator de leito fixo não ideal, foram calculados com as equações mencionadas na metodologia no item 4.5.3.2. Os resultados obtidos para cada meio reacional são mostrados na Tabela 4.14.

Tabela 4.14-Parâmetros de caracterização do reator de coluna empacotada

Álcool	RM Óleo: álcool	Área DTR (h ⁻¹)	t_m (h)	$\tau-t_m$ (h)	σ^2 (h ²)	σ^3	C_v (%)	n
Etfílico	1:8	1,0001	2,9465	0,0535	2,2982	3,3415	0,5145	4
Butílico	1:6	1,000	3,1482	0,1482	1,0763	2,7604	0,3295	9
Isoamílico	1:4	1,003	2,9660	0,034	0,7384	2,5241	0,2897	12
Fúsel simulado	1:6	1,000	2,4602	0,5398	0,8612	2,0622	0,3772	7

Fonte: autoria própria

O tempo espacial fixado para realização dos testes foi estipulado em 3 h para todos os sistemas, obtendo-se diferenças de 3, 9, 2 e 32 minutos para as misturas do óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado, respectivamente.

As diferenças não foram acentuadas e podem ser correlacionadas a erros experimentais próprios do método e não a problemas associados com o empacotamento da coluna, fato confirmado pela área da DTR (1 h⁻¹) o que evidencia ausência de caminhos preferenciais, retro mistura ou zonas mortas (FOGLER, 2009). O teste realizado usando óleo de palmiste e óleo fúsel simulado revelou a maior diferença em relação ao tempo espacial, tal situação pode ser atribuída à diferença da solubilidade dos diferentes álcoois no óleo de palmiste.

Em geral as distribuições obtidas (Figura 21) foram as esperadas para o tipo de análise tipo pulso, e no que se refere aos outros momentos da DTR (σ^2 e σ^3) os valores foram baixos (Tabela 4.14) o que indica pouca dispersão (FIDALGO et al., 2016).

O número de CSTR equivalentes foi maior que 1 para todos os sistemas reacionais testados, sendo o menor número obtido para o sistema reacional óleo e etanol (equivalente 4). O número de reatores aumentou com o incremento na cadeia de carbonos do álcool indicando melhor regime do meio reacional e mistura ao longo da coluna conforme a polaridade do álcool diminuiu. O maior número CSTR equivalentes foi obtido com o meio

reacional óleo de palmiste: álcool isoamílico, correspondendo a melhor condição de solubilidade do óleo no álcool promovendo meio reacional mais homogêneo.

4.6 Síntese dos ésteres lubrificantes em regime contínuo

4.6.1 Síntese de ésteres de etila em regime contínuo

Foram realizadas reações de transesterificação catalisadas pela lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC. A condição ótima de razão molar no regime descontínuo foi de 1:6, porém, considerando as perdas devidas à vazão, queda de pressão e a restrições próprias do fluxo contínuo no leito empacotado, a razão molar de 1:8 também foi testada.

No que diz respeito aos tempos espaciais, foram testados 14, 12, 10 e 8 h para a razão molar de 1:6 e de 8, 10 e 12 h para razão molar 1:8. O monitoramento do processo foi efetuado por coletas de amostras diárias por um período de 20 a 27 dias.

Como pode ser observado na Figura 4.20 (a, b) o início do processo mostra instabilidade do reator e o tempo necessário para alcançar o estado estacionário foi de aproximadamente 48 h. Após esse tempo, a operação do reator se tornou estável, sendo os valores dos desvios das conversões menores que 1. Com a variação do tempo espacial constata-se um período transiente, com retorno ao estado estacionário dependente do fluxo usado.

Para garantir a estabilidade do processo, o empacotamento da coluna foi feito minuciosamente, usando a mistura reacional para ir adicionando o biocatalisador ao longo do comprimento da coluna. O preenchimento do reator foi efetuado usando vazão mínima de trabalho (2,6 mL.h⁻¹) para não danificar o empacotamento e posteriormente deixado em recirculação na mesma vazão, para eliminar eventuais bolhas de ar que poderiam ter ficado retidas no leito catalítico. Com a mesma finalidade, a vazão foi medida e ajustada diariamente. Este procedimento foi repetido para todos os ensaios realizados em regime contínuo.

Figura 4.21-Conversão do óleo de palmiste em regime contínuo com álcool etílico para diferentes tempos espaciais (●14h, ▲12h, ◆10h, ■8h) catalisada pela lipase *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC e razões molares óleo: álcool 1:6 (a) e 1:8 (b), respectivamente

Analisando as conversões obtidas em meios reacionais na razão molar óleo: álcool de 1:6, mesmo sendo a melhor condição estabelecida para condução do processo descontínuo, não foi possível alcançar conversões superiores a $76,10 \pm 0,10\%$ (Figura 4.20 a)

mesmo utilizando baixas vazões (tempo espacial de 14 h). Esse comportamento era esperado considerando as dificuldades na transferência de massa do regime de fluxo imposto pela configuração do reator (SIMÕES et al., 2015). No processo descontínuo o substrato está em contato com o biocatalisador por um período maior de tempo e as condições de mistura mostram vantagens nos reatores de tanque agitado em relação ao de leito fixo (FOGLER, 2009), somando as dificuldades de manter a estabilidade da mistura óleo: etanol ocasionando redução na conversão do óleo em éster.

Para a razão molar de 1:8 verifica-se que elevadas conversões foram obtidas devido a maior formação de ésteres para todos os tempos espaciais testados, como se apresenta na Figura 4.20 (b). Para o mesmo tempo espacial foram obtidos 36,91% de ésteres adicionais com tempo espacial de 10 h e razão molar de 1:8. Um incremento de 25,83% foi observado para tempo espacial de 12 h e razão molar de 1:8 comparado com 1:6 e o mesmo tempo espacial. Além disso, os altos teores de MAGs e DAGs obtidos evidenciam a dificuldade da transesterificação nos tempos espaciais de 8, 10 e 12h quando razão molar de 1:6 foi usada. Os valores da densidade e viscosidade foram similares aos observados para os ésteres de etila obtidos em regime descontínuo.

O ésteres formados em maior proporção foram os provenientes do ácido láurico (C12) e oleico (C18:1), como pode ser observado na Figura 4.21, o que não significa especificidade da lipase por esses ácidos. A elevada porcentagem ocorre devido à presença desses ácidos em maior proporção na composição do óleo de palmiste.

Figura 4.22-Perfil de formação dos ésteres etílicos para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando a lipase *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC para a razão molar óleo: álcool de 1:6 nos tempos espaciais estudados (8, 10, 12 e 14h) e para razão molar de 1:8 (8, 10 e 12h)

Fonte: autoria própria

Considerando os parâmetros produtividade e conversão verifica-se que a condição que favoreceu o melhor desempenho (Figura 4.22), foi alcançada para meios reacionais preparados na razão molar de 1:8 e 10 h de tempo espacial, fornecendo os seguintes parâmetros de qualidade (Tabela 4.15): $98,48 \pm 0,175\%$ de conversão; $73,42 \pm 0,13(\text{m.m}^{-1})\%$ de teor de ésteres etílicos; $0,56 \pm 0,08\%$ de MAGs, ausência de DAGs, densidade de $865 \pm 0,008 \text{ kg.m}^{-3}$, viscosidade cinemática de $4,34 \pm 0,27 \text{ mm}^2.\text{s}^{-1}$ e produtividade de $66,69 \pm 0,59 \text{ mg de éster.g catalisador}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Figura 4.23-Correlação das conversões e produtividades obtidas em função do tempo espacial para as reações de transesterificação conduzidas com razões molares óleo: álcool etílico de 1:6 (a) e 1:8 (b), usando lipases de *B. cepacia* imobilizada em SiO_2 - HEC

Fonte: autoria própria

Para condição similar (RM=1:8) no processo de etanolise conduzida em regime descontínuo (Tabela 4.7) por um período de 72 h e 98,90% de conversão, o produto obtido (73,74% de ésteres etílicos) não apresentou diferenças de qualidade, porém a produtividade foi evidentemente menor (10,24 mg de éster.g meio⁻¹.h⁻¹) comparada a obtida em regime contínuo (66,69 mg de éster.g catalisador⁻¹.h⁻¹ ou 73,42 mg de éster.g meio⁻¹.h⁻¹) sendo da ordem de 7 vezes superior, dando ao processo contínuo vantagens adicionais. Esses resultados se comparam favoravelmente aos dados reportados na literatura utilizando sistemas similares (RAMOS et al., 2017; SIMÕES et al., 2015).

Tabela 4.15-Desempenho da lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC na transesterificação do óleo de palmiste com etanol em regime contínuo utilizando razões molares (RM) de óleo e etanol de 1:6 e 1:8 para tempos espaciais de 8, 10, 12 e 14h

RM	τ (h)	Conversão (%)	*Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	**MAG (m/m%)	**DAG (m/m%)	Densidade (g.cm ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster.g catalisador ⁻¹ .h ⁻¹)
1:6	8	57,12±4,5	46,73±3,69	5,36±0,42	10,13±1,23	4,13±0,46	895 ±0,005	6,33±0,59	54,35±4,00
	10	65,54±0,99	53,63±6,88	6,16±0,09	8,05±0,67	3,69±0,56	884 ±0,002	5,17±0,41	49,78±0,65
	12	70,92±0,97	58,03±0,79	6,66±0,09	8,29±1,42	2,84±1,27	877 ±0,004	4,49±0,11	43,26±0,65
	14	76,11±0,10	62,27±0,08	7,15±0,01	6,14±1,47	0	876 ±0,006	4,12±0,08	40,92±0,31
1:8	8	81,66±0,20	60,88±0,15	6,99±0,02	4,09±1,84	0	872 ±0,004	4,19±0,40	68,99±0,43
	10	98,48±0,18	73,42±0,13	8,43±0,02	0,56±0,08	0	865 ±0,008	4,34±0,27	66,69±0,59
	12	97,94±0,94	73,02±0,70	8,38±0,08	0,74±0,24	0	882 ±0,005	4,66±0,08	54,75±0,50

Fonte: autoria própria

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de meio reacional).

**Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

4.6.2 Síntese de ésteres butílicos em regime contínuo

As reações de transesterificação em regime contínuo por um período de 20 dias, usando razões molares óleo: butanol de 1:6 e 1:8 foram catalisadas pela lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC para 6, 8 e 10h de tempo espacial. Foram coletadas e analisadas amostras cada 24h e os resultados são apresentados nas Figuras 4.23, 4.24 e 2.25 e na Tabela 4.16.

Figura 4.24- Conversão do óleo de palmiste em ésteres de butila para diferentes tempos espaciais (●10h, ▲8h, ■6h) catalisada pela lipase *B. cepacia* imobilizada e razões molares óleo: butanol 1:6 (a) e 1:8 (b), respectivamente

Fonte: autoria própria

Os ensaios de transesterificação do óleo de palmiste usando butanol como aceptor de acila confirmaram os efeitos do aumento na cadeia do álcool observados nos experimentos em regime descontínuo, obtendo-se conversões mais elevadas com pouco excesso de álcool e menor tempo espacial em relação ao obtido usando etanol.

Segundo os resultados da Tabela 4.15 (álcool etílico como aceptor de acila), a razão molar de 1:6 não revelou conversões superiores (<76%) aos obtidos na mesma condição com butanol (entre 97 e 99%) sendo observado o mesmo efeito em regime descontínuo.

A conversão mais elevada ($99,10 \pm 0,30$ %) foi obtida em meios reacionais na razão molar de 1:6 e 8 horas de tempo espacial. Meios reacionais na razão molar de 1:8 e tempos espaciais de 8 e 10 h também forneceram elevadas conversões, entretanto a condição de 1:6 apresenta vantagens em termos de produtividade, como pode ser observado na Figura 4.25 (a).

Figura 4.25-Perfil de formação dos ésteres butílicos para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste usando lipases *B. cepacia* imobilizada em SiO_2 - HEC para RM óleo: álcool de 1:6 e 1:8 nos tempos espaciais estudados (10, 8 e 6 h)

Fonte: autoria própria

Em termos de qualidade de ésteres foram obtidos produtos com especificação similar tanto no processo contínuo como descontínuo (Tabelas 4.8 e 4.16), com porcentagens de MAG <1% para conversões totais 99% e viscosidades $<6 \text{ mm}^2.\text{s}^{-1}$. Entretanto, a etapa de purificação requer maior quantidade de água na etapa de lavagem para a separação do glicerol e temperatura mais elevada (100°C) no processo de evaporação.

Figura 4.26-Produtividades obtidas em função do tempo espacial para RM óleo: álcool butílico de 1:6 (a) e 1:8 (b), usando lipases de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC

Fonte: autoria própria

Tabela 4.16-Desempenho da lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂- HEC na transesterificação do óleo de palmiste com butanol utilizando razões molares (RM) de óleo e butanol de 1:6 e 1:8 para tempos espaciais de 8, 10 e 12 h

RM	τ (h)	Conversão (%)	*Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	**MAG (m/m%)	Densidade (g.cm⁻³)	Viscosidade cinemática (mm².s⁻¹)	Produtividade (mg de éster.g catalisador⁻¹.h⁻¹)
1:6	10	99,42±0,39	74,70±0,30	8,01±0,04	0,79±0,25	861±0,001	4,76±0,34	67,53±0,29
	8	99,10±0,30	74,46±0,28	7,97±0,02	0,23±0,05	866±0,001	4,89±0,20	83,79±0,22
	6	97,52±0,27	64,66±0,18	6,93±0,020	2,34±0,41	869±0,002	5,94±0,44	98,42±0,21
1:8	10	99,50±0,35	65,98±0,23	10,65±0,04	0,67±0,22	863±0,007	4,44±0,35	59,76±0,56
	8	99,64±0,20	66,07±0,14	10,67±0,02	0,69±0,51	865±0,010	4,55±0,61	74,28±0,79
	6	98,28±0,44	65,17±0,29	10,53±0,05	1,69±0,44	883±0,008	5,51±0,54	100,75±1,04

Fonte: autoria própria

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de meio reacional).

**Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

4.6.3 Síntese de ésteres isoamílicos em regime contínuo

Para as reações de transesterificação em regime contínuo usando álcool isoamílico foram testadas as razões molares óleo: álcool de 1:4 e 1:6, catalisadas pela lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC para tempos espaciais de 4, 6 e 8 h. Foram coletadas e analisadas amostras cada 24h por um período total de 20 dias e os resultados são apresentados nas Figuras 4.26, 4.27 e 4.28 e Tabela 4.17.

Figura 4.27- Conversão do óleo de palmiste em ésteres isoamílicos para diferentes tempos espaciais (■4h, △6h e ●8h) catalisada pela lipase *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC e razões molares óleo: álcool 1:4 (a) e 1:6(b), respectivamente

Fonte: autoria própria

Na produção dos ésteres de isoamila em regime contínuo podem ser observados os mesmos efeitos do incremento na cadeia do carbono aos constatados no regime descontínuo, como redução do excesso de álcool necessário para atingir elevadas conversões em menores tempos espaciais, aumento da produtividade do processo ($130,19 \pm 1,45$ mg de éster.g catalisador⁻¹.h⁻¹) como se apresenta na Tabela 4.17.

O incremento da cadeia do álcool não beneficiou a conversão na mesma proporção que observou-se comparando os resultados obtidos com álcool butílico com relação ao etanol. Este comportamento já foi relatado em outros trabalhos e é atribuído ao fato da lipase de *B. cepacia* ser menos estável em meios reacionais contendo elevado excesso de álcoois secundários do que com excesso de álcoois primários (LIU et al., 2010).

Com referência ao estado estacionário para o ensaio conduzido com meios reacionais na razão molar 1:8 foi necessário um período de 24 h (aproximadamente 3 tempos espaciais) para alcançar a estabilidade de sistema. Entretanto, para meios de alimentação na razão molar de 1:6, o sistema necessitou de 3 dias (72 h correspondendo a 18 vezes o tempo espacial) para atingir o regime estacionário. Além disso, os valores de conversão apresentaram desvio maior (2,56%) ao longo do tempo em que foi mantido em tempo espacial de 4h, revelando dificuldade na manutenção da estabilidade operacional em fluxos elevados.

O perfil de formação dos ésteres de isoamila mostrou elevada formação de laurato isoamila e oleato de isoamila, mas sempre mantendo a proporção da composição em ácidos graxos do óleo de palmiste (Figura 4.27).

Figura 4.28-Perfil de formação dos ésteres de isoamila para cada ácido graxo a partir da reação de transesterificação do óleo de palmiste em regime contínuo usando lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂- HEC para as razões molares óleo: álcool de 1:4 e 1:6 nos tempos espaciais estudados (4, 6 e 8 h).

Fonte: autoria própria

Na Figura 4.28 correlacionando conversão com produtividade verifica-se que a máxima produtividade foi obtida na condição de razão molar de 1:4 e 4 h de tempo espacial, sendo que este valor não corresponde a conversão máxima. Para conversões totais ($\cong 99\%$) as produtividades são inferiores sendo que correspondem a tempos espaciais maiores (6 e 8 h). Estas considerações requerem importância na avaliação da especificação do produto, assim, para produtos que precisam altos teores de éster são preferidas as condições de razão molar de 1:4 ou 1:6 para tempo espacial de 8 h. No caso contrário, a qualidade em termos de teor de éster poderia ser reduzida em benefício do aumento da produtividade, escolhendo a opção de máxima produtividade e conversão próxima a 95%.

Os valores de viscosidade dos ésteres isoamílicos resultantes das reações com 99% de conversão foram 22% maiores que os dos ésteres etílicos e 9% dos butílicos, devido ao efeito do aumento da cadeia alquílica (KNOTHE, 2005).

Figura 4.29-Produtividades obtidas em função do tempo espacial para RM óleo: álcool isoamílico de 1:4 (a) e 1:6 (b), usando lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂- HEC

Fonte: autoria própria

Tabela 4.17-Desempenho da lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC na transesterificação do óleo de palmiste, utilizando razões molares (RM) de óleo e álcool isoamílico de 1:4 e 1:6 para tempos espaciais de 4,6 e 8 h

RM	τ (h)	Rendimento (%)	*Teor de éster (m/m%)	Glicerol (m/m%)	**MAG (m/m%)	**DAG (m/m%)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg de éster.g catalisador ⁻¹ .h ⁻¹)
1:4	4	94,98±0,96	81,71±0,83	8,74± 0,01	0,44±0,12	2,26±0,19	910±0,025	6,93±0,86	193,77±3,34
	6	99,09±0,23	85,24±0,19	8,70± 0,02	0,91±0,23	0	876±0,004	5,33±0,19	130,18±1,45
	8	99,56±0,12	85,64±0,11	8,74± 0,01	0,44±0,12	0	868±0,005	4,49±0,41	96,59±0,63
1:6	4	86,26±2,58	63,28± 1,89	6,46± 0,19	5,29±2,34	4,85±3,63	905±0,038	7,06±0,40	148,75±1,71
	6	96,91±1,17	71,10± 0,86	7,26± 0,09	1,76±1,57	0	868±0,007	5,37±0,19	108,02±0,51
	8	99,37±0,24	72,90± 0,18	7,44± 0,02	0,39±0,35	0	863±0,006	5,01±0,17	81,73±0,74

Fonte: autoria própria

*Teor analisado nas amostras sem purificar % (massa de éster/massa de amostra sem purificar).

**Teores de MAG e DAG foram analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificar).

4.6.4 Síntese de ésteres usando óleo fúsel simulado em regime contínuo

Para as reações de transesterificação em regime contínuo usando a mistura de álcoois denominada neste trabalho de óleo fúsel simulado (10% butanol, 78,2% álcool isoamílico e 11,2% etanol), foram testadas as razões molares óleo: álcool de 1:4 e 1:6, catalisadas pela lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC para tempos espaciais de 4, 6 e 8 h. Foram coletadas e analisadas amostras cada 24h por um período de 22 dias.

A formação de ésteres foi conferida qualitativamente usando RMN H¹ como efetuado para a reação homologa em regime descontínuo e o resultado obtido foi similar ao apresentado anteriormente (Figura 4.15). O teor de éster formado foi calculado com base nos resultados obtidos por cromatografia líquida de alta eficiência (teores de mono e diacilgliceróis) e sendo confirmados com os valores da viscosidade, conforme dados apresentados na Tabela 4.18.

Tabela 4.18-Desempenho da lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-HEC, na transesterificação do óleo de palmiste, utilizando razões molares (RM) de óleo de palmiste e óleo fúsel simulado de 1:4 e 1:6 para tempos espaciais de 4, 6 e 8 h

RM	τ (h)	*Teor de éster (m.m ⁻¹ %)	Glicerol (m.m ⁻¹ %)	**MAG (m.m ⁻¹ %)	Densidade (kg.m ⁻³)	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹)	Produtividade (mg éster.g catalisad ⁻¹ .h ⁻¹)
1:4	4	93,81±0,10	9,79±0,16	6,19±1,55	908±0,010	5,86±0,533	222,25±1,92
	6	96,64±0,19	10,09±0,02	3,36±0,19	896±0,006	5,59±0,205	150,54±1,95
	8	98,72±0,10	10,31±0,01	1,28±0,10	870±0,008	4,41±0,253	111,09±0,87
1:6	4	87,20±1,51	9,10±0,16	12,80±1,51	917±0,024	5,95±0,672	223,93±5,9
	6	93,82±1,65	9,76±0,17	6,18±1,65	893±0,010	5,57±0,222	140,35±15,76
	8	98,13±0,47	10,24±0,05	1,874±0,47	870±0,008	4,90±0,324	111,03±1,31

Fonte: autoria própria

**Teores analisados nas amostras purificadas % (massa de éster/massa de amostra purificada).

Teores de éster em torno de 98% foram obtidos para as duas condições de razão molar testadas empregando tempo espacial de 8 h, valores estes confirmados pelas viscosidades (4,40 a 5,86 mm².s⁻¹). Todas as condições usadas mostraram resultados satisfatórios na formação de ésteres com propriedades como baixa viscosidade e baixos teores de MAGs e ausência de DAGs. Entretanto, a condição que requereu menor excesso de álcool e menor tempo espacial (teor de ésteres de 98, 72%) pode ser considerada a melhor alternativa, devido à dificuldade na separação do glicerol do produto final. Esse efeito já tinha sido notado nas reações com álcool isoamílico e no caso da utilização do óleo fúsel

simulado foram necessárias três etapas de lavagem com água para a purificação dos ésteres (MUSA, 2016).

As propriedades dos ésteres são similares aos ésteres obtidos com álcool isoamílico, devido ao óleo fúsel simulado conter em sua composição maior porcentagem do álcool isoamílico.

4.7 Tempo de meia-vida da enzima imobilizada

Com os valores da atividade inicial e final do derivado imobilizado, o tempo de meia vida ($t_{1/2}$) foi calculado para cada um dos substratos usados nas reações de transesterificação de óleo de palmiste em regime contínuo. Para o cálculo usou-se as equações (3.12) e (3.13) apresentadas na metodologia e os resultados obtidos são descritos na Tabela 4.19.

Tabela 4.19-Tempo de meia-vida dos biocatalisadores usados nas reações de transesterificação em regime contínuo

Álcool	kd (dias ⁻¹)	$t_{1/2}$ (dias)
Etílico	0,0240±2,449E-04	28,85±0,29
Butílico	0,0204±2,291E-03	34,16±3,83
Isoamílico	0,0182±8,562E-04	38,03±1,78
Óleo fúsel simulado	0,0154±2,180E-03	45,57±6,47

Fonte: autoria própria

O valor da constante de desativação (kd) e o tempo de meia-vida ($t_{1/2}$) para todos os substratos testados foi superior ao da enzima livre (kd = 0,15 h⁻¹ e $t_{1/2}$ = 4,67 h), sendo resultado da estabilidade dada pela imobilização. Os valores similares aos obtidos neste trabalho, porem usando outros suportes, foram reportados por outros autores (RAMOS et al., 2017; SILVA et al., 2014; SIMÕES et al., 2015).

Os tempos de meia-vida melhoraram entre 18 e 58% do valor obtido para a etanólise, confirmando a menor desativação da enzima com álcoois de cadeias maiores.

4.8 Análise global dos resultados obtidos na transesterificação em regime contínuo do óleo de palmiste e os álcoois etanol, butanol, isoamílico e óleo fúsel simulado

Em termos gerais, as observações realizadas nos testes em regime descontínuo, em relação ao efeito do álcool, as razões molares e os tempos de reação são válidos no regime contínuo usando reator de leito empacotado. O incremento na razão molar no caso do etanol comparado com o processo descontínuo evidencia as desvantagens já mencionadas em relação à miscibilidade dos triacilgliceróis e os problemas de transferência de massa típicos dos reatores de leito fixo (MUSA, 2016; KOUTEU et al., 2017; FOGLER, 2009).

Conversões próximas a 100% foram obtidas na maioria das reações, com baixos tempos de residência (10, 8, e 6 h) empregando meios reacionais na mesma razão molar usada nos processos descontínuos para ésteres de butila, isoamila e óleo fúsel simulado, provavelmente devido a presença de elevada atividade do leito catalítico favorecendo a conversão efetiva do substrato.

Com relação às enzimas usadas tanto imobilizadas em SiO_2 - β CD como em SiO_2 -HEC, não foram observadas diferenças na qualidade dos produtos obtidos, porém a lipase de *B. cepacia*, apresentou melhor desempenho e maior velocidade inicial de reação, esse resultado já tinha sido observado em outros trabalhos usando etanol e butanol como aceptores de acila (DENG et al., 2005).

O incremento do tempo de meia-vida dos biocatalisadores com o aumento do tamanho da cadeia de carbono do álcool pode ser atribuído as propriedades melhoradas do meio que permite ao substrato entrar em contato mais facilmente com os sítios ativos da enzima, por outro lado o efeito extrativo dos álcoois aumenta a solubilidade do glicerol e evita a formação de camadas em torno da enzima.

4.9 Índice de acidez e quantificação de ácidos graxos livres e teor de água

A hidrólise é uma das reações promovida pelas lipases com substratos lipídicos na presença de água. Esta reação favorece a formação de ácidos graxos livres aumentando, assim, a acidez, diminuindo a estabilidade e em geral a qualidade dos ésteres. Visando verificar a quantificação de ácidos graxos livres e cálculo da acidez foi efetuado para garantir que nas condições de reação estabelecidas para a ação catalítica da enzima a única reação ocorrendo fosse a de transesterificação.

A acidez inicial do substrato, em porcentagem de ácido láurico, dada pelo óleo de

palmiste foi $\leq 0,05\%$. A análise das amostras coletadas durante as reações de transesterificação conduzida tanto em regime descontínuo e contínuo revelaram valores na faixa de 0,04 a 0,09% de ácido láurico e expresso em índice de acidez de 0,0013 a 0,0026 mg KOH.g⁻¹. Os resultados obtidos foram similares aos valores de acidez original do óleo de palmiste e a discrepância pode ser atribuída aos erros intrínsecos do método de medição.

Para determinar o teor de água nas amostras foi usado o método de Karl Fisher com a ajuda de titulador automático com a capacidade de detectar umidade na ordem de ppm. A resposta obtida do equipamento foi ausência de água ou teor inferior ao teor mínimo detectável, sendo reportado a leitura de 0% em todas as amostras analisadas.

Estas duas análises sugerem que as condições testadas limitaram a inversão da reação no sentido da hidrólise.

4.10 Índice de viscosidade (IV)

A viscosidade é uma das propriedades mais importantes no estudo dos lubrificantes e podem ser classificados baseando-se na sua magnitude (classificação SAE). Enquanto, o índice de viscosidade é um número empírico que indica o grau de mudança da viscosidade a uma dada temperatura. Alto IV significa pequenas mudanças na viscosidade com a temperatura, já um baixo IV reflete grande mudança com a temperatura. Foram determinadas estas duas propriedades para o óleo de palmiste e para os ésteres obtidos, segundo o item 3.5.5.14 da metodologia.

Os valores de viscosidade a 40 °C (30,13 mm².s⁻¹) e 100 °C (6,47 mm².s⁻¹) para o óleo de palmiste forneceram um índice de viscosidade de 176. Na Tabela 4.20 são apresentados os índices de viscosidade dos ésteres obtidos usando diferentes aceptores de acila, na qual verifica-se redução do índice de viscosidade com relação ao tamanho da cadeia carbônica do álcool. Entretanto, nas amostras geradas nas reações utilizando o mesmo aceptor de acila, nas conversões, não foram evidenciadas diferenças marcantes, por este motivo são reportados os valores médios para cada álcool (Tabela 4.20).

Tabela 4.20-Viscosidades 100°C e índice de viscosidade (IV) dos ésteres obtidos nas reações de transesterificação do óleo de palmiste com etanol, butanol, álcool isoamílico e óleo fúsel simulado

Ésteres	Viscosidade cinemática (mm ² .s ⁻¹) a 100°C	Índice de Viscosidade (IV)
Etílicos	2,159±0,238	114,795±2,584
Butílicos	2,244±0,204	128,888±9,521
Isoamílicos	2,391±1,196	171,218±23,704
Óleo fúsel simulado	1,824±0,177	149,223±2,112

Fonte: autoria própria

O maior número de aplicações dos biolubrificantes procedentes de óleos vegetais quimicamente modificados apresentam índice de viscosidade de 200, portanto, de acordo com os dados obtidos, os ésteres de isoamila seriam a melhor alternativa para utilização como biolubrificante.

Desta forma, pode-se afirmar que o índice de viscosidade aumenta com o incremento da massa molar e o tamanho da cadeia do álcool usado na transesterificação do óleo de palmiste. No caso específico do óleo fúsel simulado que fornece uma mistura de ésteres de etila, butila e isoamila, mesmo tendo maior porcentagem ésteres de isoamila, a presença dos outros ésteres (etila e butila) reduziu em aproximadamente 12,5% o índice de viscosidade dos ésteres puros de isoamila.

4.11 Estabilidade oxidativa (EO)

A estabilidade oxidativa foi determinada pelo método de oxidação acelerada RapidOxy (Figura 4.29), como descrito na metodologia (item 3.5.5.15), obtendo valores em termos de período de indução que foram expressos em estabilidade oxidativa do método Cd12b_92_13 a 100°C (Rancimat) usando a correlação experimental apresentada na Figura 4.30.

Figura 4.30-Teste de estabilidade oxidativa por tempo de indução RapidOxy

Fonte: autoria própria

Figura 4.31-Correlação do método RapidOxy com o método Cd12b_92_13 a 100°C (Rancimat)

Fonte: Anton Paar.

Os resultados foram muito similares entre os ésteres obtidos usando o mesmo álcool sem evidenciar influência significativa no teor de ésteres nas faixas obtidas e pequenas diferenças entre os ésteres de etila, butila, isoamila e mistura de ésteres. No entanto, a diferença com a estabilidade oxidativa do óleo foi evidente como apresentado na Tabela 4.21.

Tabela 4.21-Resultados dos períodos de indução e estabilidade oxidativa do óleo de palmiste e dos ésteres obtidos por transesterificação para os métodos RapidOxy e Rancimat

Composto	Método RapidOxy	Estabilidade oxidativa
	Período de indução (min)	Método Rancimat (h)
Óleo de palmiste	78,6	>20
Ésteres de etila	22,77±0,76	≈9
Ésteres de butila	27,89±0,71	≈13
Ésteres de isoamila	27,38±1,42	≈13
Mistura de ésteres obtidos com óleo fúsel simulado	23,85±1,65	≈9,5

Fonte: autoria própria

Os resultados obtidos mostram elevadas estabilidade oxidativa para todos os ésteres, no caso do éster de etila que pode ser comparado ao especificado para uso como biodiesel (6 h), a estabilidade oxidativa de 9 h confirma a validade do processo. A similaridade dos valores de estabilidade oxidativa para os ésteres de etila, butila, isoamila e óleo fúsel simulado já era esperada devido a pequena variação do tamanho da cadeia do álcool que foi no máximo de 3 carbonos. Além disso, o óleo de palmiste tendo baixa proporção de ácidos graxos poli-insaturados apresenta elevado grau de estabilidade oxidativa (FOX; STACHOWIAK, 2007). Para efeito de uso como lubrificantes, os ésteres apresentaram valores de períodos de indução nas faixas ótimas de estabilidade oxidativa (KNOTHE, 2005).

5 CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo obter ésteres com potencial lubrificante tanto em regime descontínuo como contínuo mediante a reação de transesterificação enzimática do óleo de palmiste usando álcoois de cadeias superiores, assim como testar o processo com uma mistura de álcoois similar à do óleo fúsel. Para alcançar este objetivo, testou-se inicialmente a reação de etanolise, que por ser processo já estabelecido para outros óleos vegetais facilitou o ajuste dos sistemas operacionais e foi base para estabelecer os parâmetros utilizando os outros álcoois testados.

Da caracterização do óleo de palmiste, obsevou-se conteúdo elevado de ácido láurico e baixo teor de ácidos graxos poli-insaturados, o que influenciou na obtenção de ésteres com alta estabilidade oxidativa (>23 min período de indução).

Os biocatalisadores usados para as reações de transesterificação foram as lipases de *B. cepacia* e *P. fluorescens* imobilizadas em polissiloxano- β -ciclodextrina (SiO_2 - β CD) e polissiloxano-Hidroxietilcelulose (SiO_2 -HEC). Ambas lipases imobilizadas mostraram elevada estabilidade térmica e mecânica e forneceram elevadas conversões do óleo de palmiste em ésteres, independente do suporte utilizado.

Foram estabelecidas as melhores condições para a produção em regime descontínuo e contínuo dos ésteres de etila, butila, isoamila e mistura deles, assim como foi possível observar o efeito de variáveis como a razão molar, tempo de residência e tamanho da cadeia de carbono na conversão do óleo e nas propriedades do produto final.

No processo de transesterificação em regime descontínuo, conversões totais foram alcançadas para ambas as lipases, entretanto a lipase de *B. cepacia* demonstrou melhor desempenho com relação a velocidade inicial e requerimento de menor excesso de álcool.

Foi possível observar claramente o efeito da razão molar e do tamanho da cadeia carbônica do álcool no desempenho dos biocatalisadores sendo necessário menores excessos de álcool e menores tempos de reação à medida que a polaridade do álcool decresce (aumento da cadeia do álcool). Conversão completa usando álcool isoamílico como aceptor de acila foi obtida para meios reacionais na razão molar óleo: álcool de 1:4 e 48h.

Na transesterificação do óleo de palmiste em regime contínuo usando os diferentes álcoois, foi possível operar a coluna de leito fixo em condições estáveis em diferentes tempos espaciais, notando o mesmo efeito que o observado em regime descontínuo. A melhor condição foi obtida para tempos espaciais de 10, 8 e 6 horas para álcool etílico, butílico e

isoamílico, respectivamente. Nessas condições foram alcançadas produtividades na faixa de 66,69 e 111,09 mg de éster.g catalisador⁻¹.h⁻¹, sendo a principal vantagem do processo contínuo em comparação ao descontínuo.

Quanto a qualidade dos produtos obtidos, constatou-se aumento da viscosidade dos ésteres com o incremento da cadeia do álcool, porém mantendo dentro da faixa especificada pelas normas entre 3 a 6 mm².s⁻¹. Para conversões elevadas (>98%), foram obtidos baixos teores de MAGs (entre 0,083 e 1,28 % m.m⁻¹) e a ausência de DAGs. Tomando por base a classificação dos lubrificantes segundo a norma API para óleos básicos e considerando os índice de viscosidade e valores de viscosidade a 100 °C, os ésteres etílicos podem ser classificados dentro do grupo I e os ésteres butílicos, isoamílicos e derivados do óleo fúsel simulado podem ser classificados dentro do grupo II. Por outro lado, usando a norma ISO para lubrificantes industriais todos os ésteres obtidos podem ser classificados com ISO VG 2.

Os resultados obtidos neste estudo, foram promissores e permitiram estabelecer as condições reacionais para a produção enzimática de ésteres lubrificantes por transesterificação de óleo de palmiste com diferentes álcoois superiores de forma isolada ou combinada (óleo fúsel simulado) em regime descontínuo e contínuo.

SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

- Utilizar álcoois de tamanho de cadeias maiores (C8-C10) para a transesterificação enzimática de óleos vegetais visando obter ésteres que possam ser usados diretamente como lubrificantes;
- Testar o óleo fúsel comercial como acceptor de acila em reações de transesterificação do óleo de palmiste;
- Determinar outras propriedades dos lubrificantes como estabilidade térmica, ponto de fluidez, de névoa, de entupimento, corrosividade, ponto de fulgor, entre outras;
- Estudar a purificação dos produtos finais por via seca visando recuperar o glicerol mais facilmente.

REFERÊNCIAS

- AALAM, C. S.; SARAVANAN, C. Biodiesel production techniques: a review. **International Journal for Research in Applied Science & Engineering Technology**, v. 3, n. 6, p. 41–45, 2015.
- ABDELMOEZ, W.; MUSTAFA, A. Oleochemical industry future through biotechnology. **Journal of Oleo Science**, v. 63, n. 6, p. 545–554, 2014.
- AJI, M. M.; KYARI, S. A.; ZOAKA, G. Comparative studies between biolubricants from Jatropha oil, neem oil and mineral lubricant (Engen super 20 W/50). **Applied Research Journal**, v. 1, n. 4, p. 252–257, 2015.
- AMERICAN OIL CHEMISTS SOCIETY. **Official Methods and Recommended Practices of the Association of Official Analytical Chemist**. 5^a ed. Washington.2004.
 _____Ce 2-66:Preparation of Methyl Esters of Fatty Acids
 _____Ca5a-40:Free Fatty Acids in Crude and Refined Fats and Oils
 _____D7525 – 14: Standard Test Method for Oxidation Stability of Spark Ignition Fuel — Rapid Small Scale Oxidation Test (RSSOT).
- AMINI, Z. et al. State of the art and prospective of lipase-catalyzed transesterification reaction for biodiesel production. **Energy Conversion and Management**, v. 141, p. 339–353, 2017.
- Anton Paar**. The Ultimate Solution for Oxidation Stability Investigation. Disponível em: <https://www.anton-paar.com/?eID=documentsDownload&document=55173&L=12/>. Acesso em 18 out. 2017
- ARANSIOLA, E. F. et al. A review of current technology for biodiesel production: State of the art. **Biomass and Bioenergy**, v. 61, p. 276–297, 2014.
- ATTAR, A. et al. Performance evaluation of C.I engine using castor oil: a review. **International Journal of Current Engineering and Technology**, v. 6, n. 6, p. 5–7, 2016.
- BART, J. C. J.; GUCCIARDI, E.; CAVALLARO, S. **Biolubricants: science and technology**. Cambridge: Woodhead Publishing Ltd, p. 920 2013.
- BOOSER, E. R. **CRC handbook of lubrication**. 1^a ed. v.II. New York.CRC Press, p. 662. 1983.
- CALAM, A. et al. Investigation of usability of the fusel oil in a single cylinder spark ignition engine. **Journal of the Energy Institute**, v. 88, n. 3, p. 258–265, 2015.
- CARVALHO, A. K. F. et al. Assessing the potential of non-edible oils and residual fat to be used as a feedstock source in the enzymatic ethanolysis reaction. **Industrial Crops & Products**, v. 50, p. 485–493, 2013.
- CARVALHO, A. K. F. DE. **Síntese de biodiesel por transesterificação pela rota etílica: comparação de desempenho de catalisadores heterogêneos**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química. Escola de Engenharia de Lorena - Universidad de São Paulo, 2011.

CAZABAN, D.; WILSON, L.; BETANCOR, L. Lipase immobilization on siliceous supports: application to synthetic reactions. **Current Organic Chemistry**, v. 21, n. 2, p. 96–103, 2016.

CHEENKACHORN, K. A study of wear properties of different soybean oils. **Energy Procedia**, v. 42, p. 633–639, 2013.

CHHIBBER, V. K.; SANKET, M.; SAXENA, K. Comparative Study –A Mineral Oil Based Lubricant and Lubricant Obtained from Vegetable Oil. **International Journal of Novel Research in Interdisciplinary Studies**, v. 2, n. 4, p. 1–7, 2015.

CIPOLATTI, E. P. et al. Support engineering: relation between development of new supports for immobilization of lipases and their applications. **Biotechnology Research and Innovation**, p. 1–9, 2017.

DA CONCEIÇÃO, L. R. V. et al. Solid acid as catalyst for biodiesel production via simultaneous esterification and transesterification of macaw palm oil. **Industrial Crops and Products**, v. 89, p. 416–424, 2016.

DA RÓS, P. C. M. et al. Evaluation of the catalytic properties of *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on non-commercial matrices to be used in biodiesel synthesis from different feedstocks. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 14, p. 5508–5516, 2010.

DA SILVA, W. L. G. et al. Separation of the glycerol-biodiesel phases in an ethyl transesterification synthetic route using water. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 26, n. 9, p. 1745–1750, 2015.

DE CASTRO, H. F. et al. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, n. 1, p. 146–156, 2004.

DENG, L. et al. Enzymatic production of alkyl esters through alcoholysis: A critical evaluation of lipases and alcohols. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 82, n. 5, p. 341–347, 2005.

DÖRMO, N. et al. Manufacture of an environmental-safe biolubricant from fusel oil by enzymatic esterification in solvent-free system. **Biochemical Engineering Journal**, v. 21, n. 3, p. 229–234, 2004.

DORS, G. et al. Transesterification of palm oil catalyzed by *Pseudomonas fluorescens* lipase in a packed-bed reactor. **Energy and Fuels**, v. 26, n. 9, p. 5977–5982, 2012.

FABER, K. **Biotransformations in Organic Chemistry**. Berlin, Heidelberg. Springer, p. 454. 2011.

FERREIRA, M. C.; MEIRELLES, A. J. A.; BATISTA, E. A. C. Study of the fusel oil distillation process. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 52, n. 6, p. 2336–2351, 2013.

FIDALGO, W. R. R. et al. A fluidized bed reactor as an approach to enzymatic biodiesel production in a process with simultaneous glycerol removal. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 38, p. 217–223, 2016.

FOGLER, H. S. Elementos de engenharia das reações químicas. 4 ed. Rio de Janeiro: LTC, p. 853. 2009.

FOX, N. J.; STACHOWIAK, G. W. Vegetable oil-based lubricants-A review of oxidation. **Tribology International**, v. 40, n. 7, p. 1035–1046, 2007.

FRANK D. GUNSTONE, JOHN L. HARWOOD, A. J. D. **The Lipid Handbook**. 3^a ed. Boca Raton, FL.: Taylor & Francis Group, LLC, p. 1472. 2007

FREITAS, L. et al. An integrated approach to produce biodiesel and monoglycerides by enzymatic interestification of babassu oil (*Orbinya* sp). **Process Biochemistry**, v. 44, n. 10, p. 1068–1074, 2009.

FREITAS, L. et al. Packed-bed reactor running on babassu oil and glycerol to produce monoglycerides by enzymatic route using immobilized *Burkholderia cepacia* lipase. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 161, n. 1–8, p. 372–381, 2010.

GRYGLEWICZ, S.; MUSZYŃSKI, M.; NOWICKI, J. Enzymatic synthesis of rapeseed oil-based lubricants. **Industrial Crops and Products**, v. 45, p. 25–29, 2013.

HÁJEK, M. et al. Transesterification of rapeseed oil by butanol and separation of butyl ester. **Journal of Cleaner Production**, v. 155, p. 28–33, 2017.

HARRIS, A. T.; DAVIDSON, J. F.; THORPE, R. B. Particle residence time distributions in circulating fluidised beds. **Chemical Engineering Science**, v. 58, n. 11, p. 2181–2202, 2003.

HEIKAL, E. K. et al. Manufacturing of environment friendly biolubricants from vegetable oils. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 26, n. 1, p. 53–59, 2017.

Independent Global Market. Analyses & Forecasts Since 1958. Disponível em: <<https://www.oilworld.biz/>>. Acesso em: 20 nov. 2017.

JADHAV, S. D.; TANDALE, M. S. Optimization of transesterification process using homogeneous and nano-heterogeneous catalysts for biodiesel production from *Mangifera indica* oil. **Environmental Progress & Sustainable Energy**, v. 33, n. 2, p. 482–489, 21 jul. 2017.

JAYADAS, N. H.; PRABHAKARAN NAIR, K.; G, A. Tribological evaluation of coconut oil as an environment-friendly lubricant. **Tribology International**, v. 40, n. 2 SPEC. ISS., p. 350–354, 2007.

KALAM, M. A. et al. Friction and wear characteristics of waste vegetable oil contaminated lubricants. **International Journal of Mechanical and Materials Engineering (IJMME)**, v. 6, n. 3, p. 431–436, 2011.

KANIA, D. et al. A review of biolubricants in drilling fluids: Recent research, performance, and applications. **Journal of Petroleum Science and Engineering**, v. 135, p. 177–184, 2015.

KARMAKAR, G.; GHOSH, P.; SHARMA, B. Chemically modifying vegetable oils to prepare green lubricants. **Lubricants**, v. 5, n. 4, p. 44, 2017.

KIRAN, S. et al. Microbial lipases: production and applications: A Review. **Journal of Biochemistry, Biotechnology and Biomaterials**, v. 1, n. 2, p. 7–20, 2016.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. **Fuel Processing Technology**, v. 86, n. 10, p. 1059–1070, 2005.

KOUTEU, P. A. N. et al. Solvent-free biodiesel production catalyzed by crude lipase powder from seeds: effects of alcohol polarity, glycerol, and thermodynamic water activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 39, p. 8683–8690, 2017.

KWON, E. E. et al. Transforming duck tallow into biodiesel via noncatalytic transesterification. **Applied Energy**, v. 116, p. 20–25, 2014.

LANSDOWN, A. R. **Lubrication and Lubricant Selection: a Practical Guide**. 3^a ed. UK. Professional Engineering Publishing Limited, p. 279. 2007

LAWSON, H. **Food oils and fats: technology, utilization, and nutrition**. Boston. Chapman and Hall, p. 339. 1995.

LEUNG, K. K.; YAU, Y. H. The utilization of leftover as acid catalyst to catalyse the transesterification and esterification reactions. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 82, p. 12009, ago. 2017.

LEVENSPIEL, O. **Engenharia das reações químicas**. 3^a ed. São Paulo: Editora Edgard. 2000

LIKOZAR, B.; POHAR, A.; LEVEC, J. Transesterification of oil to biodiesel in a continuous tubular reactor with static mixers: Modelling reaction kinetics, mass transfer, scale-up and optimization considering fatty acid composition. **Fuel Processing Technology**, v. 142, p. 326–336, 2016.

LIU, Y. et al. Effect of monohydric alcohols on enzymatic transesterification for biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, v. 157, n. 1, p. 223–229, 2010.

LOURINHO, G.; BRITO, P. Advanced biodiesel production technologies: novel developments. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 14, n. 2, p. 287–316, 2015.

MALHOTRA, D.; MUKHERJEE, J.; GUPTA, M. N. Lipase catalyzed transesterification of castor oil by straight chain higher alcohols. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 119, n. 3, p. 280–283, 2015.

MANG, T.; DRESEL, W. **Lubricants and Lubrication**. 2^a ed. Weinheim. KGaA, WILEY-VCH Verlag GmbH & Co., p. 530. 2007.

MARTIN, L. **Triagem de compostos orgânicos para incorporar matrizes híbridas baseadas em sílica pela técnica sol-gel**. 2015. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Escola de Engenharia de Lorena-Universidade de São Paulo, 2015.

MCNUTT, J.; HE, Q. Development of biolubricants from vegetable oils via chemical modification. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 36, p. 1–12, 2015.

MEHTA, A.; BODH, U.; GUPTA, R. Fungal lipases: a review. **Journal of Biotechnology Research**, v. 8, p. 1944–328558, 2017.

MEUNIER, S. M.; KARIMINIA, H.-R.; LEGGE, R. L. **Immobilized Enzyme Technology for Biodiesel Production**. In: *Advances in Biofeedstocks and Biofuels*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2017. p. 67–106.

MOBARAK, H. M. et al. The prospects of biolubricants as alternatives in automotive applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 33, p. 34–43, 2014.

MOREIRA, A. B. R. et al. Biodiesel synthesis by enzymatic transesterification of palm oil with ethanol using lipases from several sources immobilized on silica-PVA composite. **Energy and Fuels**, v. 21, n. 6, p. 3689–3694, 2007.

MORENO-PIRAJÁN, J. C.; GIRALDO, L. Study of immobilized candida rugosa lipase for biodiesel fuel production from palm oil by flow microcalorimetry. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 4, n. 1, p. 55–62, 2011.

MUSA, I. A. The effects of alcohol to oil molar ratios and the type of alcohol on biodiesel production using transesterification process. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 25, n. 1, p. 21–31, 2016.

MUSA, J. J. Evaluation of the lubricating properties of palm oil. *Leonardo Electronic Journal of Practices and Technologies*, v. 9, n. 17, p. 79–84, 2010.

NARANJO, J. C. et al. Lipase supported on granular activated carbon and activated carbon cloth as a catalyst in the synthesis of biodiesel fuel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 66, n. 1–2, p. 166–171, 2010.

NICOLAU, A. et al. The relation between lubricity and electrical properties of low sulfur diesel and diesel/biodiesel blends. **Fuel**, v. 117, n. PART A, p. 26–32, 2014.

NO, S. Y. Inedible vegetable oils and their derivatives for alternative diesel fuels in CI engines: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 1, p. 131–149, 2011.

OH, J. et al. Synthesis of biolubricants using sulfated zirconia catalysts. **Applied Catalysis A: General**, v. 455, p. 164–171, 2013.

OLANIYI, P.; BABALOLA, O. O.; MARY, O. A. Physicochemical properties of palm kernel oil. **Journal of Biological Sciences**, v. 6, n. 5, p. 205–207, 2014.

OLIVEIRA, M. V. S. et al. Transesterification of babassu oil catalyzed by *Burkholderia cepacia* encapsulated in sol-gel matrix employing protic ionic liquid as an additive. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 36, n. 3, p. 445, 2014.

PANCHAL, T. M. et al. A methodological review on bio-lubricants from vegetable oil based resources. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 70, n. August 2016, p. 65–70, 2017.

PATHAK, S.; CHANDRA, D. Transesterification with a green catalyst obtained from post harvest Banana plant waste. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**, v. 8, n. 7, p. 486–491, 2016.

PENG, D.-X. Effects of concentration and temperature on tribological properties of biodiesel. **Advances in Mechanical Engineering**, v. 7, n. 11, p. 4-10.

RAMOS, L. et al. Combined use of a two-stage packed bed reactor with a glycerol extraction column for enzymatic biodiesel synthesis from macaw palm oil. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 56, n. 1, p. 1–7, 2017.

REDDY, K. S. V. K. et al. Experimental investigation on usage of palm oil as a lubricant to substitute mineral oil in CI engines. **Chinese Journal of Engineering**, v. 2014, p. 1–5, 2014.

REEVES, C. J.; SIDDAIAH, A.; MENEZES, P. L. A review on the science and technology of natural and synthetic biolubricants. **Journal of Bio- and Tribo-Corrosion**, v. 3, n. 1, p. 11, 2017.

ROBERTO, P. et al. Propriedades físicas de óleos lubrificantes minerais e vegetais e avaliação de desgastes por four ball. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 5, n. April, p. 154–163, 2016.

ROYON, D. et al. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using t-butanol as a solvent. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 3, p. 648–653, 2007.

RUDNICK, L. R. **Synthetics, Mineral Oils, and Bio-Based Lubricants: Chemistry and Technology**. 2^a ed. Boca Raton, FL.: Taylor & Francis Group, LLC, p 975. 2013

RUGGIERO, A. et al. On the tribological performance of vegetal lubricants: Experimental investigation on *Jatropha Curcas* L. oil. **Procedia Engineering**, v. 149, n. June, p. 431–437, 2016.

SAKAI, S. et al. Production of butyl-biodiesel using lipase physically-adsorbed onto electrospun polyacrylonitrile fibers. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 19, p. 7344–7349, 2010.

SALIH, N. et al. Thermo-oxidation, friction-reducing and physicochemical properties of ricinoleic acid based-diester biolubricants. **Arabian Journal of Chemistry**, v. 10, p. S2273–S2280, 2017.

SAMARTH, N. B.; MAHANWAR, P. A. Modified vegetable oil based additives as a future polymeric material—review. **Open Journal of Organic Polymer Materials**, v. 5, n. 1, p. 1–22, 2015.

SÁNCHEZ, D. A.; TONETTO, G. M.; FERREIRA, M. L. *Burkholderia cepacia* lipase: A versatile catalyst in synthesis reactions. **Biotechnology and Bioengineering**, n. February, p. 1–19, 2017.

SANNI, S. E. et al. Process optimization of the transesterification processes of palm kernel and soybean oils for lube oil synthesis. **International Journal of Applied Engineering Research**, v. 12, n. 14, p. 4113–4129, 2017.

SANTOS, K. C. et al. Characterization of the catalytic properties of lipases from plant seeds for the production of concentrated fatty acids from different vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, v. 49, n. August, p. 462–470, 2013.

SASSO, F. et al. *Burkholderia cepacia* lipase is a promising biocatalyst for biofuel production. **Biotechnology Journal**, v. 11, n. 7, p. 954–960, 2016.

SCHIRRU, M. **Development of an Ultrasonic Sensing Technique to Measure Lubricant Viscosity in Engine Journal Bearing In-Situ**. Cham. Springer International Publishing, p. 167. 2017.

SÉVERAC, E. et al. Continuous lipase-catalyzed production of esters from crude high-oleic sunflower oil. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 8, p. 4954–4961, 2011.

SHARMA, B. K.; STIPANOVIC, A. J. Development of a new oxidation stability test method for lubricating oils using high-pressure differential scanning calorimetry. **Thermochimica Acta**, v. 402, n. 1–2, p. 1–18, 2003.

SHASHIDHARA, Y. M.; JAYARAM, S. R. Vegetable oils as a potential cutting fluid-An evolution. **Tribology International**, v. 43, n. 5–6, p. 1073–1081, 2010.

SILVA, W. C. E et al. Influence of feedstock source on the biocatalyst stability and reactor performance in continuous biodiesel production. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 3, p. 881–886, 2014.

SIMÕES, A. S. et al. Performance of an enzymatic packed bed reactor running on babassu oil to yield fatty ethyl esters (FAEE) in a solvent-free system. **Biofuel Research Journal**, v. 6, p. 242–247, 2015.

SINGH, Y. et al. Sustainability of a non-edible vegetable oil based bio-lubricant for automotive applications: A review. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 111, p. 701–713, 2017.

SOARES, C. M. et al. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 77–79, p. 745–757, 1999.

SOCCOL, C. R.; FRANÇA, L. R.; RESENDE, R. R. **Biotecnologia Aplicada à**

Agro&indústria.1ª ed. v. 4. São Paulo. Bucher. 2016.

STOJILKOVIĆ, M.; KOLB, M. Tribological properties of biodegradable universal tractor transmission oil. **Tribology in Industry**, v. 38, n. 2, p. 229–234, 2016.

SU, E.; WEI, D. Production of fatty acid butyl esters using the low cost naturally immobilized *Carica papaya* lipase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 62, n. 27, p. 6375–6381, 2014.

SUN, J. et al. Biocatalytic conversion of coconut oil to natural flavor esters optimized with response surface methodology. **JAACS, Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 11, p. 1991–1998, 2012a.

SUN, J. et al. Lipase-catalysed transesterification of coconut oil with fusel alcohols in a solvent-free system. **Food Chemistry**, v. 134, n. 1, p. 89–94, 2012b.

TACIAS-PASCACIO, V. G. et al. Evaluation of different lipase biocatalysts in the production of biodiesel from used cooking oil: Critical role of the immobilization support. **Fuel**, v. 200, p. 1–10, 2017.

TALEBIAN-KIAKALAIEH, A.; AMIN, N. A. S.; MAZAHARI, H. A review on novel processes of biodiesel production from waste cooking oil. **Applied Energy**, 2013.

TALHA, N. S.; SULAIMAN, S. Overview of catalysts in biodiesel production. **ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 11, n. 1, p. 439–442, 2016.

TIWARI, D.; WANKHADE, S. R. Simulation investigation of effect of bio- lubricant between tribological system of piston ring and cylinder liner. **International Journal of Innovative Research in Science, Engineering and Technology**, v. 4, n. 8, p. 7999–8007, 2015.

TOFTGAARD PEDERSEN, A. et al. Batch production of FAEE-biodiesel using a liquid lipase formulation. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 105, p. 89–94, 2014.

TRAN, D. T.; CHANG, J. S.; LEE, D. J. Recent insights into continuous-flow biodiesel production via catalytic and non-catalytic transesterification processes. **Applied Energy**, v. 185, p. 376–409, 2017.

URIESTE, D. et al. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 407–412, 2008.

VILLENEUVE, P. et al. Customizing lipases for biocatalysis: A survey of chemical, physical and molecular biological approaches. **Journal of Molecular Catalysis - B Enzymatic**, v. 9, n. 4–6, p. 113–148, 2000.

WANG, X. et al. Biodiesel production in packed-bed reactors using lipase-nanoparticle biocomposite. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 10, p. 6352–6355, 2011.

WU, Y. et al. Improvement of oxidative stability of trimethylolpropane trioleate lubricant. **Thermochimica Acta**, v. 569, p. 112–118, 2013.

APÊNDICES

APÊNDICE A- Espectros de RMN ^1H (4,5-0,5 ppm) obtido a 300Hz com CDCl_3 dos padrões de ésteres de isoamila

Octanoato de isoamila

Decanoato de isoamila

Laureato de isoamila

Miristato de isoamila

Palmitato de isoamila

Estearato de isoamila

Oleato de isoamila

APÊNDICE B- Dados para o cálculo da DTR para as misturas de óleo de palmiste e álcoois butílicos, isoamílico e fúsel simulado.

Óleo de palmiste:álcool butílico		
Tempo (h)	Absorbância	Concentração (g/L)
0,00	0,000	0,000
0,25	0,000	0,000
0,50	0,000	0,000
0,75	0,000	0,000
1,00	0,000	0,000
1,25	0,000	0,000
1,50	0,000	0,000
1,75	0,000	0,000
2,00	0,067	0,053
2,25	0,145	0,269
2,50	0,212	0,407
3,00	0,169	0,319
3,50	0,082	0,138
4,00	0,097	0,085
4,50	0,094	0,041
5,00	0,310	0,030
5,50	0,429	0,014
6,00	0,385	0,008
6,50	0,291	0,006
7,00	0,213	0,004
7,50	0,179	0,003
8,00	0,144	0,003
8,50	0,102	0,002
9,00	0,097	0,002
9,50	0,105	0,002
10,00	0,115	0,002
10,50	0,000	0,000
11,00	0,000	0,000

Óleo de palmiste:álcool isoamílico		
Tempo (h)	Absorbância	Concentração (g/L)
0,00	0,000	0,000
0,25	0,000	0,000
0,50	0,000	0,000
0,75	0,000	0,000
1,00	0,000	0,000
1,25	0,000	0,000
1,50	0,000	0,000
1,75	0,046	0,025
2,00	0,373	0,170
2,25	0,600	0,541
2,50	0,383	0,696
2,75	0,440	0,797
3,00	0,330	0,603
3,50	0,126	0,241
4,00	0,113	0,109
4,50	0,069	0,035
5,00	0,377	0,017
5,50	0,841	0,015
6,00	0,464	0,008
6,50	0,342	0,006
7,00	0,245	0,005
7,50	0,177	0,003
8,00	0,184	0,003
8,50	0,176	0,003
9,00	0,180	0,003
9,50	0,124	0,002
10,00	0,000	0,000
10,50	0,000	0,000

Óleo de palmiste:álcool fúsel sintético		
Tempo (h)	Absorbância	Concentração (g/L)
0,00	0,000	0,000
0,25	0,000	0,000
0,50	0,000	0,000
0,75	0,000	0,000
1,00	0,000	0,000
1,25	0,128	0,043
1,50	0,278	0,272
1,75	0,269	0,527
2,00	0,318	0,621
2,25	0,310	0,605
2,50	0,208	0,411
2,75	0,126	0,253
3,00	0,159	0,159
3,50	0,178	0,117
4,00	0,156	0,031
4,50	0,329	0,032
5,50	0,840	0,016
6,00	0,407	0,008
6,50	0,232	0,005
7,00	0,173	0,003
7,50	0,139	0,003
8,00	0,119	0,002
8,50	0,059	0,001
9,00	0,000	0,000
9,50	0,000	0,000
10,00	0,000	0,000