



**UNIVERSITATEA BABES-BOLYAI CLUJ-NAPOCA  
FACULTATEA DE CHIMIE ȘI INGINERIE CHIMICA**



## **TEZA DE DOCTORAT**

# **INVESTIGAȚII PRIVIND OBȚINEREA COMBUSTIBILILOR DE TIP BIODIESEL PE CALE ENZIMATICĂ**

## **REZUMAT**

**Conducător științific,**

**Prof. Dr. Florin-Dan Irimie**

**Doctorand,**

**Adriana Jurj (căs. Gog)**

## Cuprins

CAPITOLUL I: PREAMBUL	12
CAPITOLUL II: TEHNOLOGII DE OBTINERE A COMBUSTIBILILOR DE TIP BODIESEL	16
1. Introducere	16
2. Obținerea de biodiesel prin reacții de transesterificare	17
2.1 Generalități	17
2.2 Transesterificarea în cataliză omogenă alcalină	19
2.3 Transesterificarea în cataliză omogenă acidă	20
2.4 Transesterificarea în cataliză eterogenă bazică și acidă	20
2.5 Transesterificarea enzimatică	21
2.6 Transesterificarea cu alcool în stare supercritică și subcritică	22
2.7 Transesterificarea folosind microunde	23
2.8 Transesterificarea folosind ultrasunete	24
3. Concluzii	25
4. Bibliografie	25
CAPITOLUL III: UTILIZAREA ENZIMELOR PENTRU OBȚINEREA COMBUSTIBILILOR DE TIP BODIESEL	31
1. Introducere	31
2. Dezavantajele proceselor utilizate în prezent pentru obținerea de biodiesel	32
3. Obținerea de biodiesel prin tehnici enzimatic	32
3.1 Mecanismul reacției de transesterificare a trigliceridelor în alchil esteri catalizată de lipaze	33
3.2 Lipazele utilizate în procesele de obținere a biodieselului	37
3.3 Substraturile folosite pentru obținerea de biodiesel	38
3.4 Alcoolii utilizați în procesul enzimatic de transesterificare	39
3.5 Mediul de reacție – prezența sau absența solventului organic	39
3.6 Conținutul de apă	41
3.7 Inactivarea și regenerarea lipazelor în cadrul proceselor de obținere a biodieselului	41
3.7.1 Inactivarea lipazelor datorată metanolului	41
3.7.2 Inactivarea lipazelor datorată glicerolului	43
3.7.3 Inactivarea lipazelor datorată fosfolipidelor	44
4. Concluzii	44
5. Bibliografie	45
CAPITOLUL IV: CARACTERIZARE FIZICO-CHIMICA ULEI DE FLOAREA SOARELUI - MATERIA PRIMĂ FOLOSITĂ PENTRU OBȚINEREA DE BODIESEL PE CALE ENZIMATICĂ	49
1. Generalități	49
2. Materiale și metode	50
2.1 Materiale	50
2.2 Determinarea compoziției în acizi grași a uleiului de floarea soarelui	50
2.2.1 Principiul metodei	50
2.2.2 Aparatura	50
2.2.3 Mod de lucru:	50
2.3 Determinarea indicelui de iod	51
2.3.1 Principiul metodei	51
2.3.2 Mod de lucru	51
2.4 Determinarea indicelui de aciditate	51

2.4.1 Principiul metodei	51
2.4.2 Mod de lucru	51
2.5 Determinarea conținutului de apă	52
2.5.1 Principiul metodei	52
2.5.2 Mod de lucru	52
2.6 Determinarea conținutului de sulf	52
2.6.1 Principiul metodei	52
2.6.2 Mod de lucru	53
3. Rezultate și discuții	53
3.1 Compoziția în acizi grași a uleiului de floarea soarelui	53
3.2 Indicele de iod	56
3.3 Indicele de aciditate	57
3.4 Conținutul de apă	57
3.5 Conținutul de sulf	58
4. Concluzii	58
5. Bibliografie	59
<b>CAPITOLUL V CONTRIBUȚII ORIGINALE PRIVIND OBȚINEREA ENZIMATICĂ A COMBUSTIBILILOR DE TIP BIODIESEL</b>	<b>60</b>
1. Considerații generale	60
2. Screeningul lipazelor pentru obținerea de biodiesel din ulei de floarea soarelui	62
2.1 Materiale și metode	63
2.1.1 Materiale	63
2.1.2 Reacția de metanoliză enzimatică	63
2.1.3 Analiza gaz-cromatografică	64
2.2 Rezultate și discuții	64
3. Optimizarea metanolizei enzimatice de obținere biodiesel din ulei de floarea soarelui	72
3.1 Materiale și metode	72
3.1.1 Materiale	72
3.1.2 Metanoliza uleiului de floarea soarelui	73
3.1.3 Analiza gaz-cromatografică	73
3.2 Rezultate și discuții	74
3.2.1 Efectul tert-butanolului ca mediu de reacție pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui	74
3.2.2 Efectul raportului molar metanol/ulei floarea soarelui	75
3.2.3 Cantitatea de enzimă	75
4. Obținerea de biodiesel prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui: sistem batch cu agitare vs sistem coloana cu umplutura și recirculare	77
4.1 Materiale și metode	77
4.1.1 Materiale	77
4.1.2 Metanoliza uleiului de floarea soarelui	78
4.1.2.1 Reactor tip batch	78
4.1.2.2 Reactor tip coloană cu umplutură	78
4.1.3 Analiza gaz-cromatografică	78
4.2 Rezultate și discuții	79
5. Concluzii	87
6. Anexe	88
7. Bibliografie	100
<b>CAPITOLUL VI CARACTERIZARE FIZICO-CHIMICA BIODIESEL OBȚINUT PRIN METANOLIZA ENZIMATICĂ A ULEIULUI DE FLOAREA</b>	<b>102</b>

## SOARELUI

1. Generalități	102
2 Materiale si metode	104
2.1 Materiale	104
2.2 Determinarea conținutului de esteri din biodiesel	105
2.2.1 Principiul metodei	105
2.2.2 Aparatura	105
2.2.3 Mod de lucru	105
2.3 Determinarea densității la 15°C	106
2.3.1 Principiul metodei	106
2.3.2 Mod de lucru	106
2.4 Determinarea viscozității la 40°C	106
2.4.1 Principiul metodei	106
2.4.2 Mod de lucru	106
2.5 Determinarea punctului de inflamabilitate	107
2.5.1 Principiul metodei	107
2.5.2 Mod de lucru	107
2.6 Determinarea conținutului de sulf	107
2.6.1 Principiul metodei	107
2.6.2 Mod de lucru	108
2.7 Determinarea conținutului de apă	108
2.7.1 Principiul metodei	108
2.7.2 Mod de lucru	108
2.8 Determinarea indicelui de aciditate	108
2.8.1 Principiul metodei	108
2.8.2 Mod de lucru	109
2.9 Determinarea indicelui de iod	109
2.9.1 Principiul metodei	109
2.9.2 Mod de lucru	109
2.10 Determinarea conținutului de metanol	109
2.10.1 Principiul metodei	109
2.10.2 Aparatura	109
2.10.3 Mod de lucru	110
2.11 Determinarea conținutului de glicerol liber și total și mono-, di-, trigliceridelor reziduale	110
2.11.1 Principiul metodei	110
2.11.2 Aparatura	111
2.11.3 Mod de lucru	111
2.12 Determinarea conținutului de Na, K	112
2.12.1 Principiul metodei	112
2.12.2 Mod de lucru	112
2.13 Valoare energetică (puterea calorifică)	112
2.13.1 Principiul metodei	112
2.13.2 Mod de lucru	112
3. Rezultate si discuții	113
3.1 Conținutul de esteri	114
3.2 Densitatea la 15 °C	115
3.3 Viscositatea la 40 °C	115
3.4 Punctul de inflamabilitate	116
3.5 Conținutul de sulf	117

3.6 Conținutul de apă	117
3.7 Indicele de aciditate	118
3.8 Indicele de iod	118
3.9 Conținutul de metanol	119
3.10 Conținutul de mono- di- și trigliceride, glicerol liber și glicerol total	120
3.11 Conținutul de Na, K	123
3.12 Valoarea energetică (puterea calorifică)	123
4. Concluzii	124
5. Bibliografie	124
CAPITOLUL VII CONCLUZII	126

## Capitolul I Preambul

Biodieselul este format dintr-un amestec de esteri alchilici ai acizilor grași și reprezintă un substituent natural pentru combustibilii de tip diesel de origine petrolieră, datorită calităților similare sau uneori, chiar superioare, pe care le prezintă față de aceștia. Biodieselul este un combustibil obținut din surse regenerabile, în principal uleiuri vegetale și grăsimi animale.

Un domeniu de mare interes este reprezentat de obținerea biodieselului pe cale enzimatică, proces care elimină dezavantajele procesului alcalin aplicat în prezent pentru producția de biodiesel la nivel industrial.

Teza de doctorat abordează o tematică de actualitate și anume, obținerea combustibililor de tip biodiesel pe cale enzimatică.

În urma activității de cercetare teoretică și experimentală se pot evidenția următoarele contribuții originale ale acestei teze de doctorat:

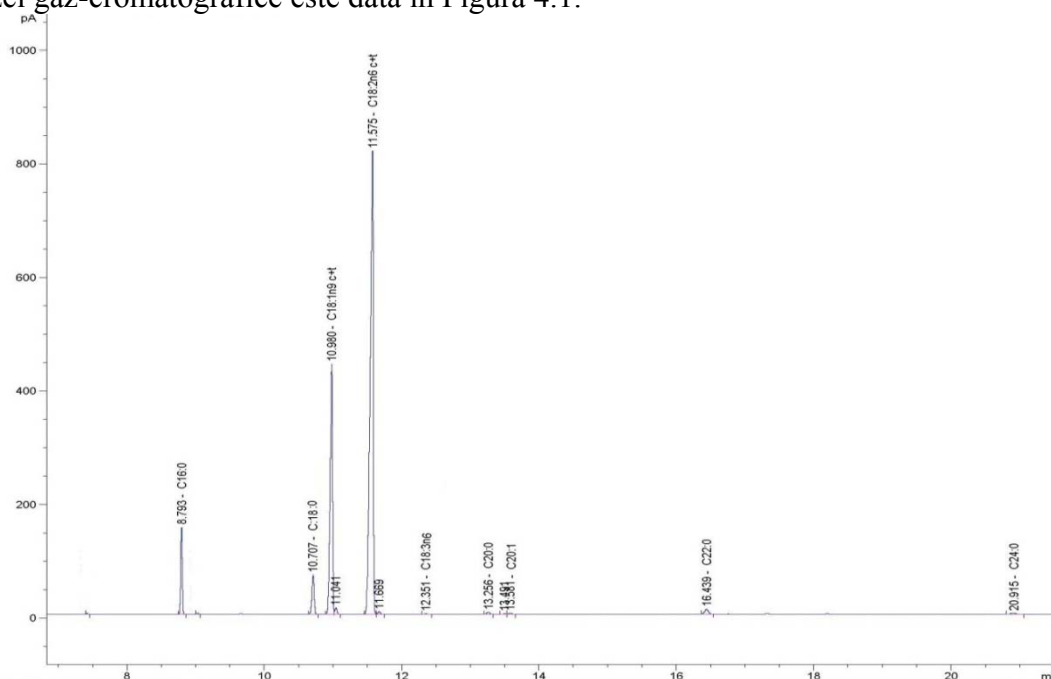
- Caracterizarea uleiului de floarea soarelui obținut local folosit ca materie primă pentru obținerea de biodiesel pe cale enzimatică. Această caracterizare este necesară deoarece materia primă influențează semnificativ caracteristicile de combustibil ale biodieselului obținut. Caracteristicile care s-au determinat au fost următoarele: compoziția în acizi grași, indicele de aciditate, indicele de iod, conținutul de apă, conținutul de sulf.
- Screeningul a șase tipuri de lipaze pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui și anume: lipaza din *Candida rugosa* sub formă liberă (CRL), lipaza B din *Candida antarctica* sub formă imobilizată pe suport de rășină acrilică (Novozym 435), lipaza pancreatică de origine porcină sub formă liberă (PPL), lipaza din *Mucor miehei* sub formă imobilizată pe rășină macroporoasă schimbător de ioni (Lipozyme MM IM), lipaza AK din *Pseudomonas fluorescens* (AK) sub formă liberă și lipaza A din *Candida antarctica* sub formă imobilizată.
- Stabilirea condițiilor optime de reacție pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui catalizată de Novozym 435 și anume: prezența *tert*-butanolului ca mediu de reacție pentru a evita inhibiția lipazei cauzată excesul de metanol, temperatura optimă de reacție: 40° C, raportul volumetric *tert*-butanol:ulei 6:1, raportul molar metanol:ulei 6:1, cantitatea de Novozym 435 10 % (m/m), în raport cu cantitatea de ulei.
- Evaluarea a două sisteme de reacție pentru metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui și anume: un sistem de reacție cu agitare continuă (reactor de tip *batch*) cu un sistem de reacție cu deplasare continuă și recirculare (reactor de tip coloană cu umplură);
- Caracterizarea combustibilului de tip biodiesel obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui și evaluarea acestui biodiesel în raport cu specificațiile de calitate impuse de standardul european de biodiesel, SR EN 14214:2010. În acest sens s-au determinat următoarele caracteristici fizico-chimice: conținutul de esteri, densitatea la 15°C, viscozitatea la 40°C, punctul de inflamabilitate, conținutul de sulf, conținutul de apă, indicele de aciditate, indicele de iod, conținutul de metanol, conținutul de mono-, di-, trigliceride, glicerol liber și total, conținutul de Na, K, valoarea energetică.

## Capitolul IV

### Caracterizarea fizico-chimică a uleiului de floarea soarelui - materia primă folosită pentru obținerea de biodiesel pe cale enzimatică

#### 3.1 Compoziția în acizi grași a uleiului de floarea soarelui

Determinarea compoziției în acizi grași prin gaz cromatografie presupune transformarea lor în esteri metilici mai volatili, prin metanoliza bazică. Cromatograma obținută în urma analizei gaz-cromatografice este dată în Figura 4.1.



**Figura 4.1.** Cromatograma obținută prin analiza gaz-cromatografică în vederea determinării compoziției în acizi grași a uleiului de floarea soarelui

Compoziția în acizi grași a uleiului de floarea soarelui determinată prin gaz cromatografie cu detector cu ionizare în flacără este prezentată în Tabelul 4.1.

**Tabel 4.1.** Compoziția în acizi grași a uleiului de floarea soarelui folosit pentru reacțiile de obținere a biodieselului

Denumire sistematică	Denumire uzuală	Abreviere	RT (min)	Conținut [%] (m/m)
Acid hexadecanoic	Acid palmitic	C16:0	8,793	6,16
Acid octadecanoic	Acid stearic	C18:0	10,707	3,88
Acid <i>cis</i> -9-octadecenoic	Acid oleic	C18:1n9	10,980	26,3
Acid <i>cis,cis</i> -9,12-octadecadienoic	Acid linoleic	C18:2n6	11,575	62,65
Acid 6,9,12-octadecatrienoic	Acid $\gamma$ -linolenic	C18:3n6	12,351	0,10
Acid eicosanoic	Acid arahidic	C20:0	13,256	0,16
Acid <i>cis</i> -11-eicosenoic	Acid gadoleic	C20:1 c	13,561	0,02
Acid docosanoic	Acid behenic	C22:0	16,439	0,63
Acid tetracosanoic	Acid lignoceric	C24:0	20,915	0,10

Din fig. 4.1 și tabelul 4.1 se observă că acidul gras majoritar este acidul linoleic cu un procent masic de 62.6%, urmat de acidul oleic cu un procent de 26.3%. Pe baza rezultatelor obținute se poate calcula compoziția în acizi grași în funcție de gradul de nesaturare, aceasta fiind dată în Tabelul 4.2.

**Tabel 4.2.** Compoziția în acizi grași a uleiului de floarea soarelui în funcție de gradul de nesaturare

Compoziția în acizi grași	Conținut [%] (m/m)
Acizi grași saturați	11.0
Acizi grași mononesaturați	26.3
Acizi grași polinesaturați	62.7

Datele obținute arată faptul că uleiul de floarea soarelui, datorită compoziției în acizi grași prezintă unele dezavantaje în ceea ce privește câteva caracteristici de motor și anume: stabilitatea la oxidare, stabilitatea la depozitare, performanța motorului, deși în amestecurile cu motorină în proporțiile folosite la ora actuală (5-20%) influența lor este nesemnificativă. În schimb, avantajul principal îl constituie scăderea CFPP care are ca și consecință directă creșterea utilizării biodieselului rezultat pe timp de iarnă.

Valorile obținute pentru celelalte caracteristici determinate pentru uleiul de floarea soarelui: indicele de iod, indicele de aciditate, conținutul de sulf, conținutul de apă, sunt date în Tabelul 4.5, acestea fiind discutate ulterior.

**Tabel 4.5** Caracteristici fizico-chimice ale uleiului de floarea soarelui folosit ca materie primă pentru obținerea biodieselului pe cale enzimatică

Caracteristica	UM	Valoare
Conținut de sulf	mg/kg	0.27
Conținut de apă	mg/kg	360.6
Indice de aciditate	mg KOH/g	0.06
Indice de iod	g I <sub>2</sub> /100g	128

### 3.2 Indicele de iod

Indicele de iod este exprimat în grame de iod care reacționează cu 100 g grăsime sau ulei în anumite condiții, fiind un parametru care cuantifică gradul de nesaturare al grăsimii/uleiului respectiv. Pentru uleiul de floarea soarelui s-a obținut o valoare a indicelui de iod de 128 g I<sub>2</sub>/100 g ulei, valoare care corespunde cu datele existente în literatură, pentru care indicele de iod este situat în domeniul 125 – 135 g I<sub>2</sub>/100 g ulei [5].

Preocupările privind posibilele probleme cauzate de biodiesel asupra motoarelor au fost adesea atribuite materiilor prime cu valoare ridicată a indicelui de iod deși studiile realizate au demonstrat faptul că stabilitatea biodieselului depinde, în afară de gradul de nesaturare și de conținutul de antioxidanți, și de tehnologia de producție utilizată.

### 3.3 Indicele de aciditate

Aciditatea este un indiciu al prezenței acizilor grași liberi sau al acizilor formați ca urmare a degradării și arderii uleiului (în timpul sau după prelucrare). Indicele de aciditate reprezintă cantitatea de bază necesară pentru a neutraliza proba de ulei, fiind exprimată în mg KOH/g probă. Acest parametru este de foarte mare interes, mai ales, în cazul metanolizei alcaline unde prezența acizilor grași liberi trebuie limitată datorită formării de săpunuri care duc la formarea de emulsii. În cazul biodieselului enzimatic, prezența acizilor grași liberi în materia primă nu constituie o problemă, aceștia fiind convertiți în esteri concomitent cu trigliceridele.



Valoarea indicelui de aciditate pentru uleiul de floarea soarelui utilizat ca materie primă pentru obținerea de biodiesel pe cale enzimatică este de 0.06 mg KOH/g ulei, o valoare care indică un conținut scăzut de acizi grași liberi.

### 3.4 Conținutul de apă

Apă reprezintă un component minor care se regăsește în majoritatea materiilor prime folosite pentru obținerea de biodiesel. În general, un conținut ridicat de apă determină o scădere a randamentului în esteri deoarece are loc o reacție nedorită de hidroliză a trigliceridelor. În ceea ce privește procesele enzimaticе, este necesară prezența unei anumite cantități de apă care să “lubrifice” lanțurile polipeptidice și care să mențină enzima în conformația sa activă. Pentru uleiul de floarea soarelui folosit ca materie primă s-a obținut o valoare de 360 mg/Kg, o valoare sub limita maxim admisă pentru biodiesel conform standardului de calitate SR EN 14214:2010 și anume 500 mg/Kg [1].

### 3.5 Conținutul de sulf

Conținutul de sulf din biodiesel este limitat la 10 mg/Kg de către standardul de calitate SR EN 14214:2010. Din această cauză este important de știut conținutul de sulf din materia primă deoarece aceasta poate contribui la conținutul de sulf din biodieselul rezultat. Pentru uleiul de floarea soarelui s-a obținut o valoare a conținutului de sulf de numai 0,27 mg/Kg, mult sub limita impusă de standardul de calitate SR EN 14214:2010 [1].

## Capitolul V

### Contribuții originale privind obținerea enzimatică a combustibililor de tip biodiesel

## 2. Screeningul lipazelor pentru obținerea de biodiesel din ulei de floarea soarelui

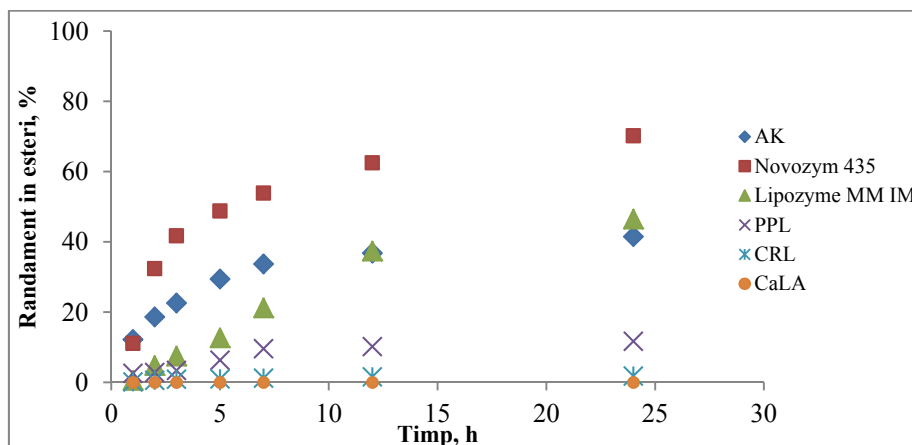
În cadrul acestei activități de cercetare experimentală s-a realizat un proces de screening al lipazelor în vederea stabilirii enzimei adecvate pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui. Lipazele care s-au testat pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui au fost următoarele: lipaza din *Candida rugosa* sub formă liberă (CRL), lipaza B din *Candida antarctica* sub formă imobilizată pe suport de rășină acrilică (Novozym 435), lipaza pancreatică de origine porcine sub formă liberă (PPL), lipaza din *Mucor miehei* sub formă imobilizată pe rășină macroporoasă schimbător de ioni (Lipozyme MM IM), lipaza AK din *Pseudomonas fluorescens* (AK) sub formă liberă și lipaza A din *Candida antarctica* sub formă imobilizată.

Pentru fiecare dintre aceste lipaze a fost realizată reacția de metanoliză a uleiului de floarea soarelui în mediu de *tert*-butanol, la patru temperaturi de reacție diferite: 25°C, 40°C, 50°C și 60°C. Experimentele pentru screeningul lipazelor au fost realizate în prezență de *tert*-butanol pentru a evita inactivarea lipazelor de către metanol, respectiv de glicerolul rezultat în cadrul reacției. *tert*-Butanolul dizolvă atât metanolul cât și glicerolul și nu reprezintă un substrat pentru lipaze deoarece acestea nu acționează asupra alcoolilor terțiari.

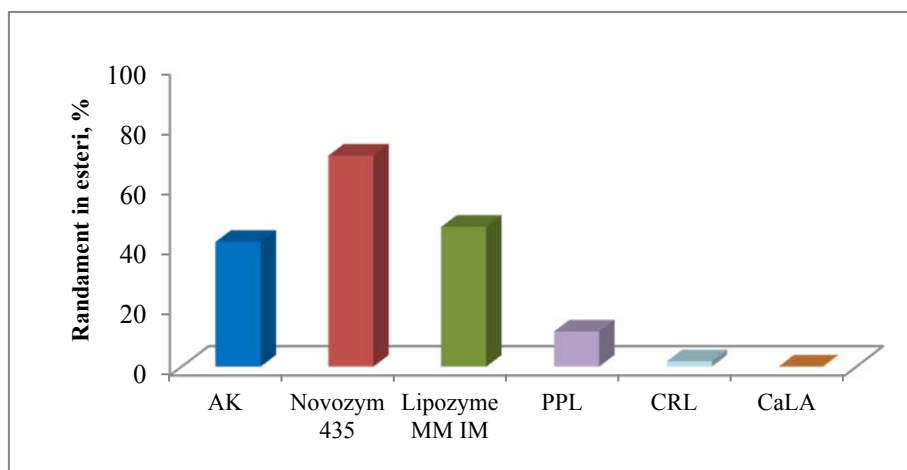
Reacțiile au fost monitorizate timp de 24 h, iar pentru aceasta s-au prelevat probe din amestecul de reacție la intervale regulate de timp și s-au analizat. Analizele au urmărit determinarea conținutului de esteri metilici și au fost realizate cu ajutorul cromatografiei în fază gazoasă cu detector cu ionizare în flacără.

Prin reprezentarea grafică a datelor obținute s-a evidențiat atât influența lipazei cât și a temperaturii asupra reacției de transesterificare a uleiului de floarea soarelui cu metanol.

În Figurile 5.2-5.3 sunt reprezentate grafic rezultatele obținute pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui la 25 °C pentru cele șase lipaze supuse testării. Se poate observa că cele mai bune rezultate după 24 h de reacție au fost obținute pentru Novozym 435 cu un randament în esteri de 70,2 %, urmată de lipazele Lipozyme MM și AK cu randamente de 46,5 %, respectiv 41,5 %. PPL a dus la obținerea unui randament de 11,7 % în timp ce CRL a prezentat o activitate enzimatică foarte slabă, cu un randament de numai 1,8 %. Lipaza A de la *Candida antarctica* nu a prezentat activitate enzimatică.

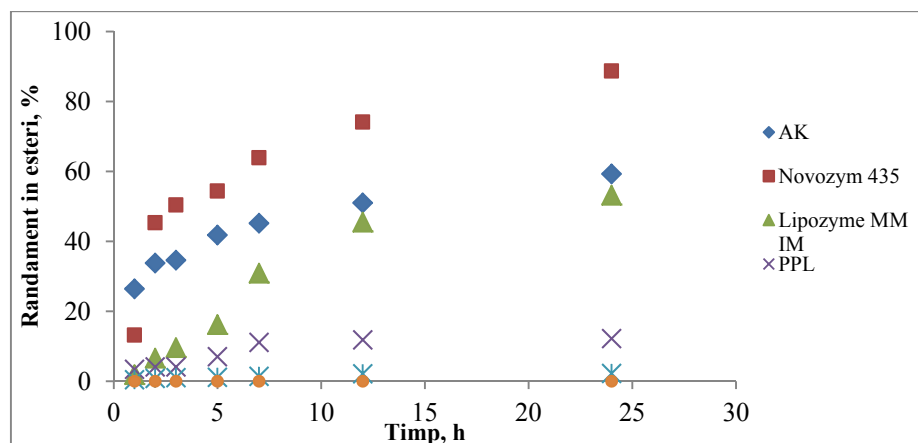


**Figura 5.2** Reprezentarea grafică a variației în timp a randamentelor în esteri pentru cele șase lipaze studiate la 25 °C; metanol/ulei 6:1 (mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

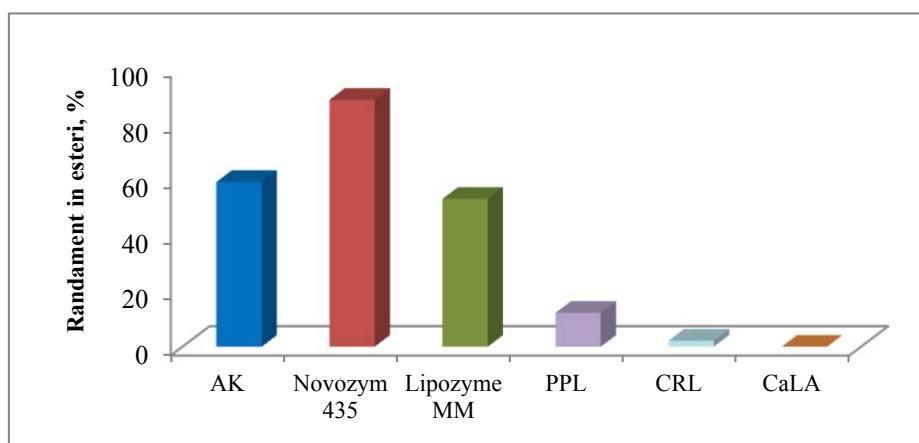


**Figura 5.3** Screening-ul lipazelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui în prezență de t-butanol la 25 °C; metanol/ulei 6:1 (mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

Rezultatele obținute pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui la 40 °C pentru cele șase lipaze supuse testării sunt reprezentate grafic în Figurile 5.4-5.5. Cele mai bune rezultate pentru temperatura de 40 °C au fost obținute tot pentru Novozym 435 cu un randament în esteri de 88,7 %, urmată de lipaza AK și Lipozyme MM cu randamente de 59,3 %, respectiv 53,2 %. PPL a dus la obținerea unui randament de 12,2 % în timp ce CRL a prezentat o activitate enzimatică foarte slabă, cu un randament de numai 2,2 %. Lipaza A de la *Candida antarctica* nu a prezentat activitate enzimatică.

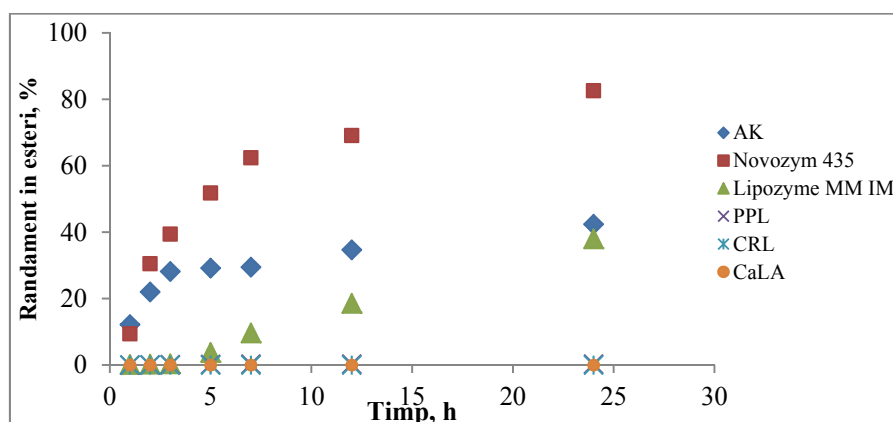


**Figura 5.4** Reprezentarea grafică a variației în timp a randamentelor în esteri pentru cele șase lipaze studiate la 40 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

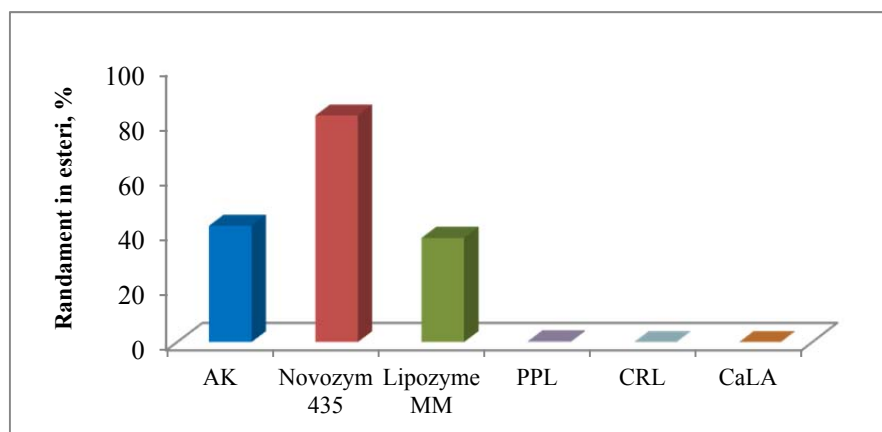


**Figura 5.5** Screening-ul lipazelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui în prezență de t-butanol la 40 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

Rezultatele obținute pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui la 50 °C pentru cele șase lipaze testate sunt reprezentate grafic în Figurile 5.6-5.7.



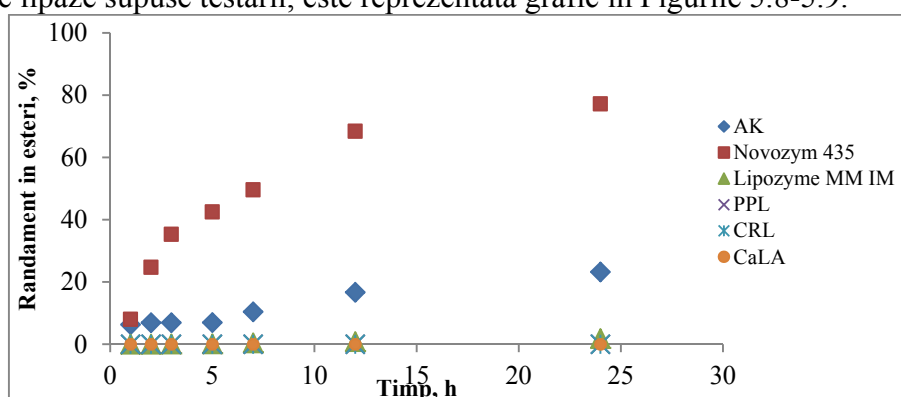
**Figura 5.6** Reprezentarea grafică a variației în timp a randamentelor în esteri pentru cele șase lipaze studiate la 50 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm



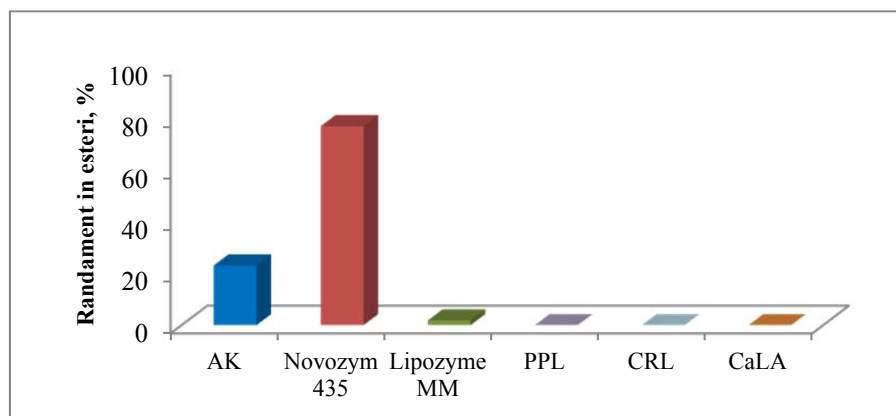
**Figura 5.7** Screening-ul lipazelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui în prezență de *t*-butanol la 50 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

După 24 h de reacție la 50 °C, cele mai bune rezultate au fost obținute tot pentru Novozym 435 cu un randament în esteri de 82,7 %, urmată de lipaza AK și Lipozyme MM cu randamente de 42,4 %, respectiv 38,0 %. PPL a prezentat o foarte slabă activitate enzimatică cu un randament de numai 0,3 % iar CRL și CaL A nu au prezentat activitate enzimatică.

Variația randamentelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui la 60 °C catalizată de cele șase lipaze supuse testării, este reprezentată grafic în Figurile 5.8-5.9.



**Figura 5.8** Reprezentarea grafică a variației în timp a randamentelor în esteri pentru cele șase lipaze studiate la 60 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

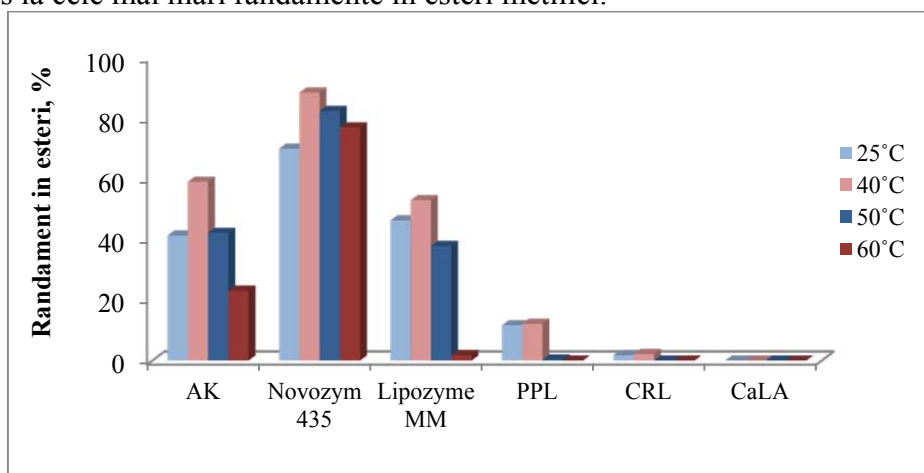


**Figura 5.9** Screening-ul lipazelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui în prezență de *t*-butanol la 60 °C; metanol/ulei 6:1(mol/mol); terț-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

Și în acest caz, cele mai bune rezultate după 24 h de reacție au fost obținute pentru Novozym 435, deși randamentul în esteri a scăzut la 77,2%. Pentru lipaza AK s-a obținut un randament de numai 23,2 %, în timp ce Lipozyme MM a prezentat o foarte slabă activitate enzimatică cu un randament de numai 1,84 %. Celelalte trei lipaze nu au prezentat activitate enzimatică.

Influența temperaturii asupra activității enzimaticice a lipazelor studiate pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui este reprezentată grafic în Figura 5.10. Creșterea temperaturii peste 40°C a determinat scăderea activității enzimaticice pentru fiecare caz.

În urma seturilor de experimente realizate în vederea găsirii enzimei cu cea mai mare eficiență, se poate concluziona că cele mai bune rezultate au fost obținute pentru Novozym 435 care a dus la obținerea unui randament în esteri de 88,7 % pentru o temperatură de reacție de 40°C. Aceasta a fost urmată de lipaza AK cu un randament de 59,3 % și de Lipozyme MM cu un randament de 53,2%. PPL a prezentat o activitate enzimatică destul de slabă cu un randament de 12,2 % în timp ce pentru CRL activitatea enzimatică a fost aproape inexistentă (randament de 2,2 %). Lipaza A de la *Candida antarctica* nu a prezentat activitate enzimatică ceea ce înseamnă că trigliceridele nu reprezintă un substrat pentru această enzimă. În ceea ce privește temperatura de reacție, se observă că, pentru toate lipazele testate, temperatura de 40°C a dus la cele mai mari randamente în esteri metilici.



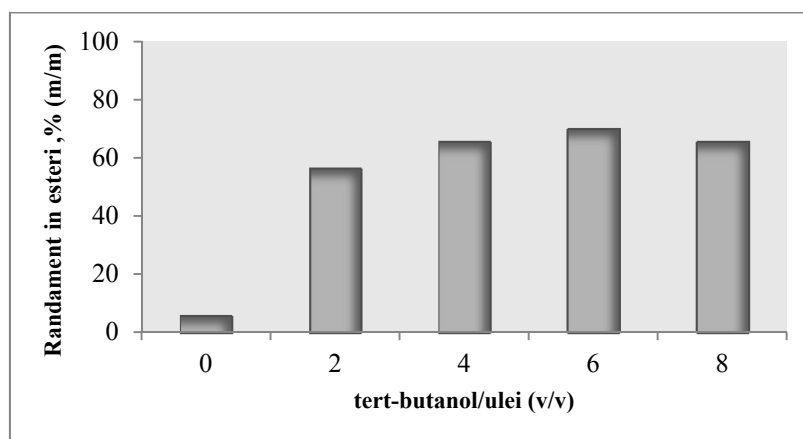
**Figura 5.10** Influența temperaturii asupra activității lipazelor pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui în prezență de *t*-butanol; metanol/ulei 6:1 (mol/mol); *terț*-butanol:ulei 4:1 (v/v), 2% enzimă (m/m) în raport cu cantitatea de ulei; timp de reacție, 24 h, agitare 200 rpm

### 3. Optimizarea metanolizei enzimaticice de obținere biodiesel din ulei de floarea soarelui

Obiectivul acestei activități de cercetare experimentale l-a constituit identificarea condițiilor optime de reacție pentru metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui, catalizată de Novozym 435, lipaza B din *Candida antarctica*. Dintre enzimele testate în procesul de screening pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui, Novozym 435 a dus la obținerea celor mai bune rezultate, aceasta fiind în continuare utilizată pentru procesele de metanoliză a uleiului de floarea soarelui. Temperatura optimă a enzimei pentru reacția de transesterificare a trigliceridelor s-a dovedit a fi 40 °C. Rezultate bune s-au obținut și la temperatura camerei, la care s-au testat și următorii parametri de reacție: cantitatea de solvent, cantitatea de enzimă și raportul molar metanol/ulei.

#### 3.2.1 Efectul *terț*-butanolului ca mediu de reacție pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui

Pentru reacția de metanoliză a uleiului de floarea soarelui catalizată de Novozym 435, ca mediu de reacție s-a ales *terț*-butanolul deoarece dizolvă atât metanolul cât și glicerolul și nu reprezintă un substrat pentru lipaze (lipazele nu prezintă activitate enzimatică față de alcoolii terțiari) [6]. În plus, *terț*-butanolul este un solvent netoxic, iar în ceea ce privește prețul, este relativ ieftin. În cadrul acestei lucrări s-a studiat efectul *terț*-butanolului asupra metanolizei enzimatică a uleiului de floarea soarelui prin determinarea randamentului în esteri pentru un raport *terț*-butanol/ulei cuprins în intervalul 0:1 – 8:1 (v/v). Rezultatele obținute sunt reprezentate grafic în Figura 5.11.

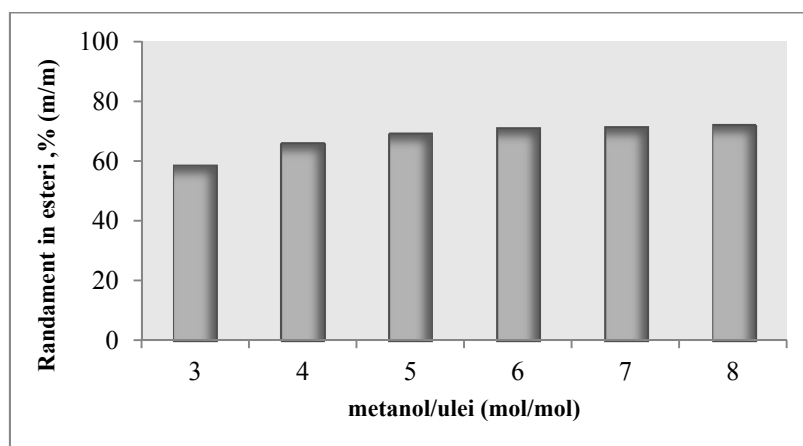


**Figura 5.11.** Efectul *terț*-butanolului asupra metanolizei enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435 raportat la cantitatea de ulei, timp de reacție 8 h

În lipsa solventului organic, randamentul în esteri a fost foarte scăzut, de numai 5,7 % (m/m), ca urmare a toxicității metanolului asupra activității lipazei. În momentul în care *terț*-butanolul a fost introdus în amestecul de reacție randamentul a crescut semnificativ. Cel mai bun randament în esteri, și anume de 70% (m/m), a fost obținut pentru un raport volumetric *terț*-butanol/ulei de 6:1, acesta fiind în continuare folosit în experimentele ulterioare.

### 3.2.2 Efectul raportului molar metanol/ulei floarea soarelui

Un alt parametru studiat a fost influența metanolului asupra randamentului în esteri. Pentru aceasta s-a realizat un set de experimente în care raportul molar metanol/ulei a fost variat în intervalul (3:1-8:1) (mol/mol), rezultatele fiind prezentate în Figura 5.12.



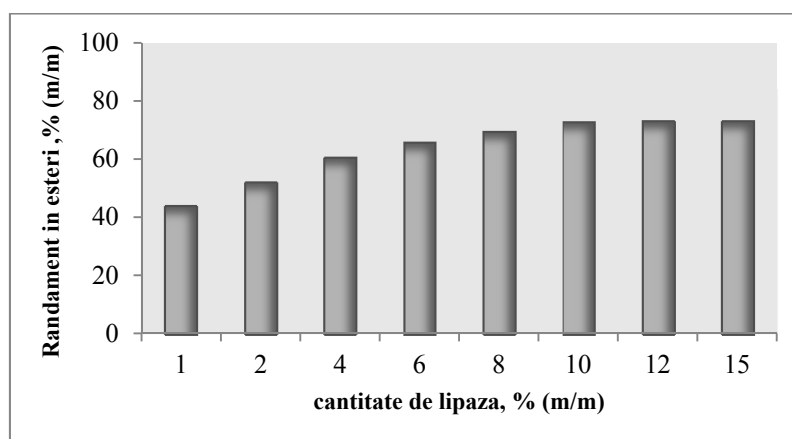
**Figura 5.12.** Efectul raportului molar metanol/ulei asupra reacției de metanoliză a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: *terț*-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435 raportat la cantitatea de ulei, timp de reacție 8 h

Din rezultatele obținute (fig. 5.12) se observă că randamentul în esteri metilici a crescut odată cu creșterea raportului molar metanol/ulei iar prezența *terț*-butanolului a permis folosirea metanolului în mare exces fără să determine inactivarea lipazei. Având în vedere că rezultatele pentru un raport molar metanol/ulei situat peste 6:1 nu mai variază substanțial, varianta optimă aleasă a fost metanol/ulei 6:1 (mol/mol), utilizată în continuare.

### 3.2.3 Cantitatea de enzimă

Un alt parametru studiat l-a constituit cantitatea de Novozym 435. Efectul cantității de enzimă asupra randamentului în esteri a fost studiat prin folosirea unei cantități de Novozym 435 cuprinsă între 1 și 15% (m/m) în raport cu cantitatea de ulei folosită.

Rezultatele obținute sunt prezentate în Figura 5.13.



**Figura 5.13.** Efectul cantității de lipază asupra reacției de metanoliză a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), *terț*-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), timp de reacție 8 h.

Din fig. 5.13 se observă că randamentul în esteri a crescut odată cu creșterea cantității de enzimă iar la o cantitate de lipază de 10% (m/m) s-a obținut un randament de 72% după 8 h de reacție. Creșterea în continuare a cantității de lipază nu a dus la modificări semnificative ale randamentului ceea ce a determinat ca în experimentele ulterioare cantitatea de 10 % (m/m) să fie utilizată ca variantă optimă.

În urma experimentelor realizate pentru metanoliza uleiului de floarea soarelui catalizată de Novozym 435 s-au găsit următoarele condiții optime de reacție:

- este necesară prezența *terț*-butanolului ca mediu de reacție pentru a evita inhibiția lipazei cauzată excesul de metanol;
- raportul *terț*-butanol:ulei - 6:1 (v/v);
- raportul metanol:ulei - 6:1 (mol/mol);
- cantitatea de Novozym 435- 10 % (m/m), în raport cu cantitatea de ulei.

## 4. Obținerea de biodiesel prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui: reactor *batch* cu agitare vs reactor coloana cu umplutura și recirculare

În cadrul acestei activități de cercetare experimentală obiectivul principal l-a constituit compararea a două sisteme de reacție pentru obținerea de biodiesel pe cale enzimatică și anume: metanoliză în sistem cu agitare continuă, respectiv metanoliză în sistem cu deplasare și recirculare.

În primul caz reacția a fost realizată folosind un reactor de tip *batch* în care enzima este supusă agitării împreună cu amestecul de reacție de la începutul reacției până la finalizarea acesteia, în timp ce, în al doilea caz, reacția a avut loc prin recircularea amestecului de reacție peste stratul fix de enzimă – reactor tip coloană cu umplură.

Condițiile de reacție folosite în ambele cazuri sunt cele care s-au dovedit a fi optime pentru metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui catalizată de Novozym 435. Reacțiile au fost monitorizate timp de 24 h, iar pentru aceasta s-au prelevat probe din amestecul de reacție la intervale regulate de timp și s-au analizat. Analizele efectuate au urmărit determinarea randamentului în esteri metilici și au fost realizate cu ajutorul cromatografiei în fază gazoasă.

## 4.2 Rezultate și discuții

Monitorizarea reacțiilor în timp a fost realizată prin gaz-cromatografie folosind ca standard intern heptadecanoatul de metil.

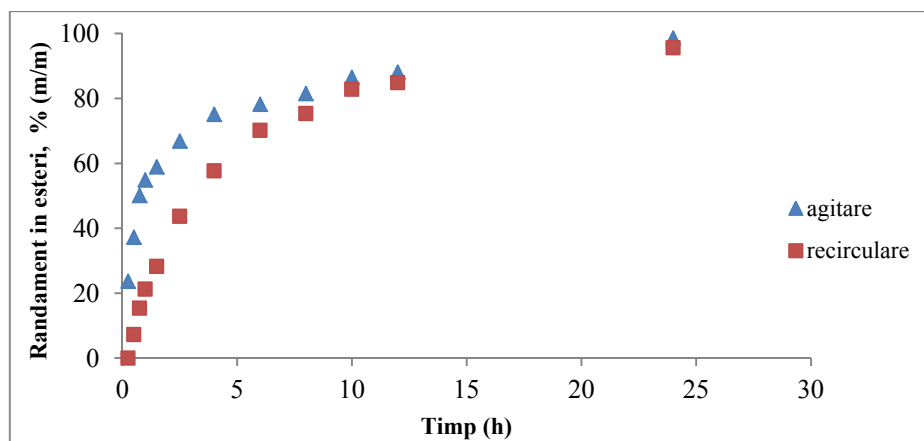
Pentru fiecare sistem de reacție, pe lângă variația în timp a randamentului global în esteri, s-a monitorizat și variația în timp a randamentului pentru fiecare ester cuantificat individual. Datele astfel obținute au fost reprezentate grafic în Figurile 5.14-5.20.

Analizând fig. 5.14 – 5.20 se observă că modul de variație al randamentului global este dat de cel al esterilor metilici ai acizilor majoritari din compoziția uleiului de floarea soarelui, și anume acidul linoleic (C18:2, 63,25 % (m/m)) și acidul oleic (C18:1, 25,23 % (m/m)). Pentru ambele sisteme folosite conversia uleiului în esteri metilici a fost aproape completă după 24 h. Pentru reacția cu agitare, după 24 h, randamentul în esteri a atins valoarea de 98,6% (m/m) în timp ce pentru reacția cu deplasare continuă și recirculare, valoarea randamentului în esteri a fost puțin mai scăzută, și anume de 95,6% (m/m).

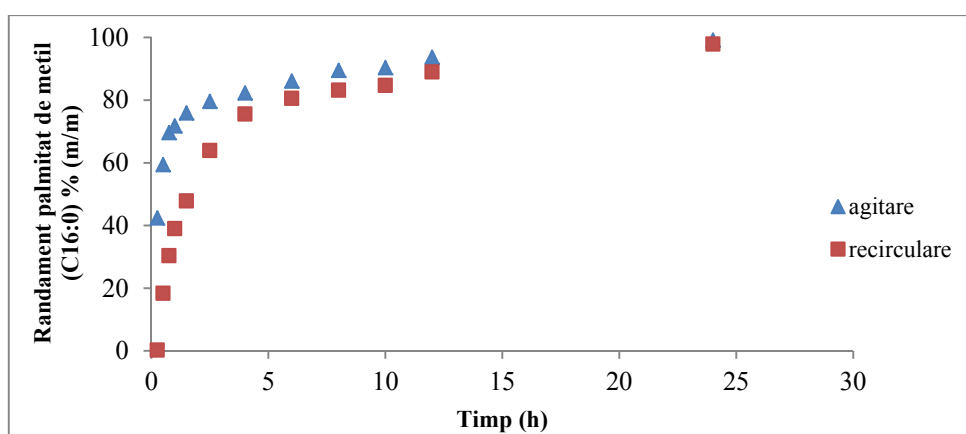
După 24 h de reacție, sistemul cu agitare a dus la rezultate mai bune comparativ cu sistemul cu deplasare continuă. Acest lucru se datorează faptului că, în sistemul cu agitare, încă de la începutul reacției enzima se află în contact cu toată cantitatea de ulei ceea ce duce la o viteză mai mare de reacție. Astfel, după primele 15 min, randamentul global pentru reacția cu agitare este deja de 23,6% (m/m), în timp ce pentru cea cu deplasare, conversia uleiului în esteri nici măcar nu a început. Acest avans al reacției cu agitare persistă pe toată durata zonei liniare de variație, după aproximativ 4 h, randamentul global pentru reacția cu agitare fiind de 75,1% (m/m), față de numai 57,7% (m/m), valoarea corespunzătoare pentru sistemul cu deplasare și recirculare continuă (Figura 5.14). În continuare însă, se observă o încetinire a reacției cu agitare comparativ cu reacția cu deplasare și recirculare continuă. Astfel după 6 h de reacție randamentul pentru sistemul de agitare este de 78,2% (m/m) în timp ce pentru sistemul cu deplasare randamentul a atins valoarea de 70,2% (m/m). Această scădere a vitezei de reacție pentru sistemul cu agitare se datorează faptului că glicerina rezultată ca produs secundar, ca urmare a agitării continue, este antrenată în amestecul de reacție și creează impedimente în ceea ce privește contactul direct dintre enzimă și ulei. Pentru sistemul cu deplasare, acest lucru nu se întâmplă, glicerina formată separându-se la partea inferioară a amestecului de reacție. Acest lucru se poate observa și pentru perioada următoare de timp, după 12 h de reacție, randamentul reacției cu agitare fiind de 86,5% (m/m) iar cel al reacției cu deplasare fiind de 82,9% (m/m). Această mică diferență se păstrează însă și după 24 h de reacție, randamentul pentru sistemul cu agitare atingând valoarea de 98,6% (m/m), respectiv o valoare de 95,6% (m/m) pentru reacția cu deplasare.

Modul de variație pentru randamentul reacțiilor este același, atât pentru fiecare ester cuantificat individual cât și pentru conținutul total de esteri, și anume: randamentul variază liniar în prima perioadă, după 4 h de reacție variația devine asimptotică, atingând un maxim după aproximativ 24 h.

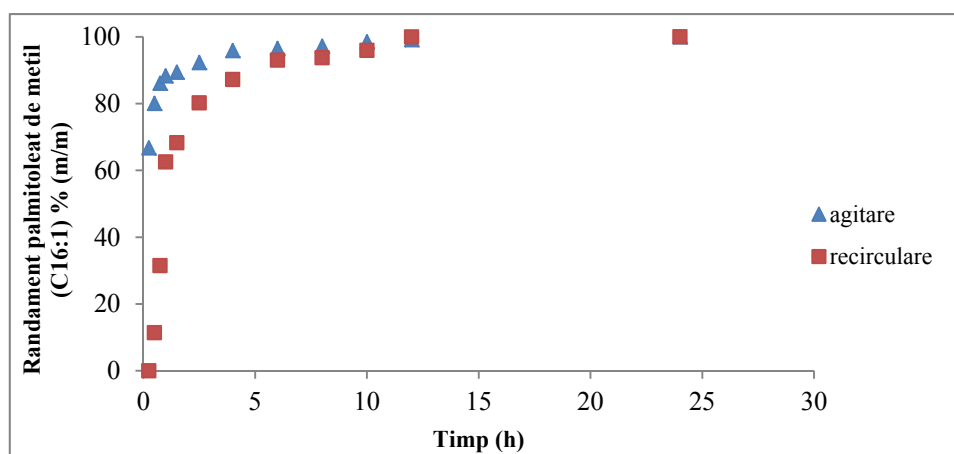




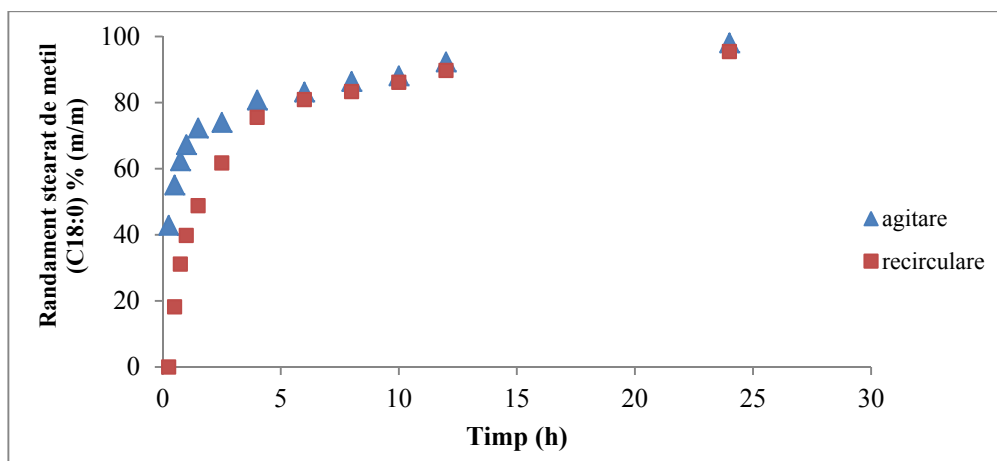
**Figura 5.14** Variația în timp a randamentului global în esteri pentru procesul de metanoliză enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (v/v), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



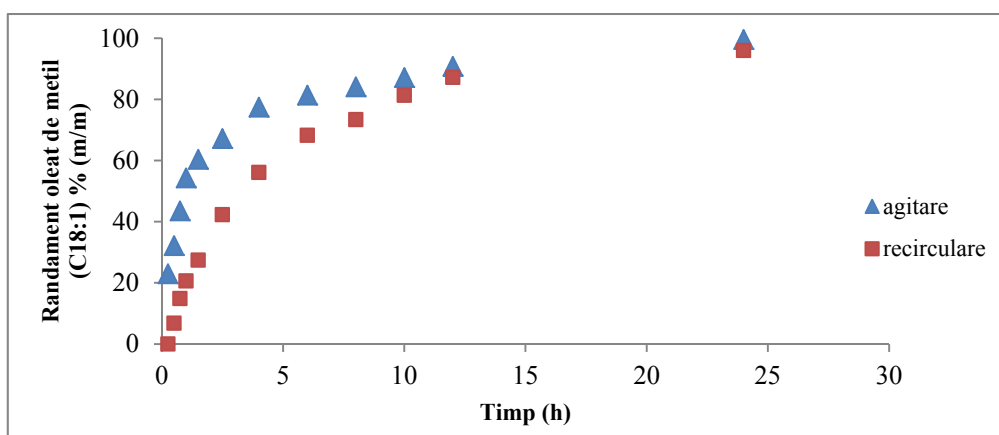
**Figura 5.15** Variația în timp a randamentului pentru palmitatul de metil (C16:0) în procesul de metanoliza enzimatica a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (v/v), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



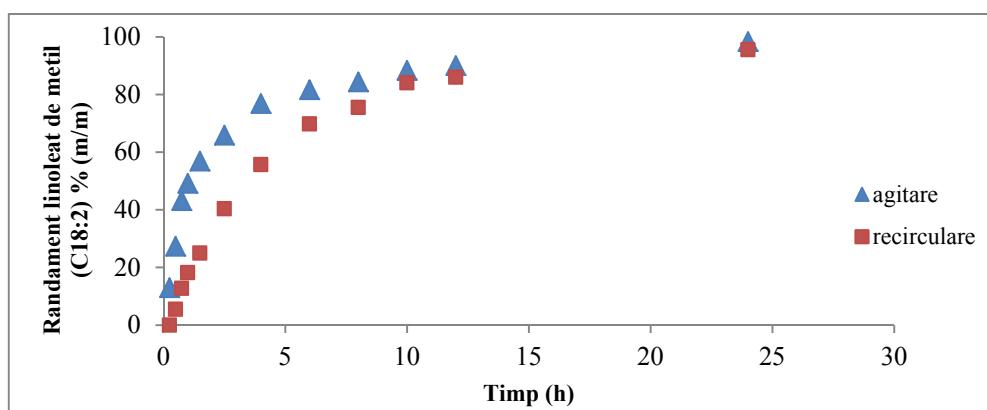
**Figura 5.16** Variația în timp a randamentului pentru palmitoleatul de metil (C16:1) în procesul de metanoliza enzimatica a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (v/v), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



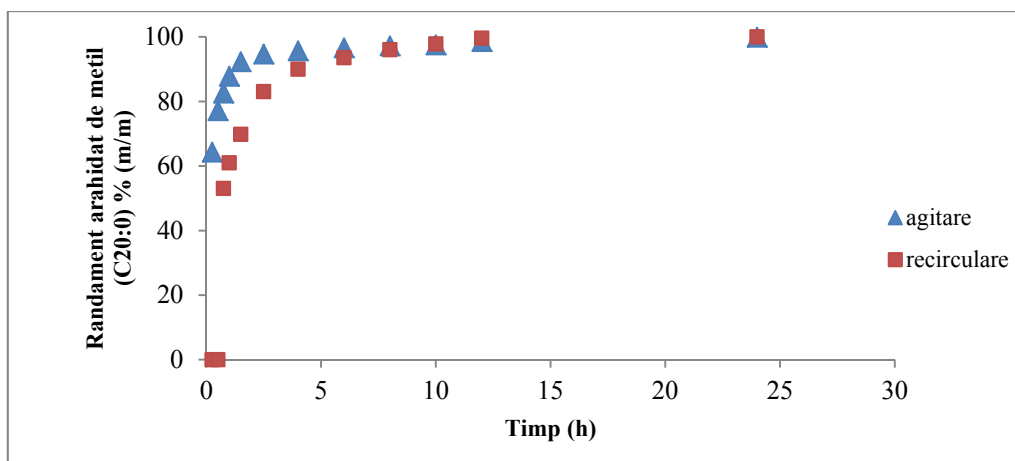
**Figura 5.17** Variația în timp a randamentului pentru stearatul de metil (C18:0) în procesul de metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



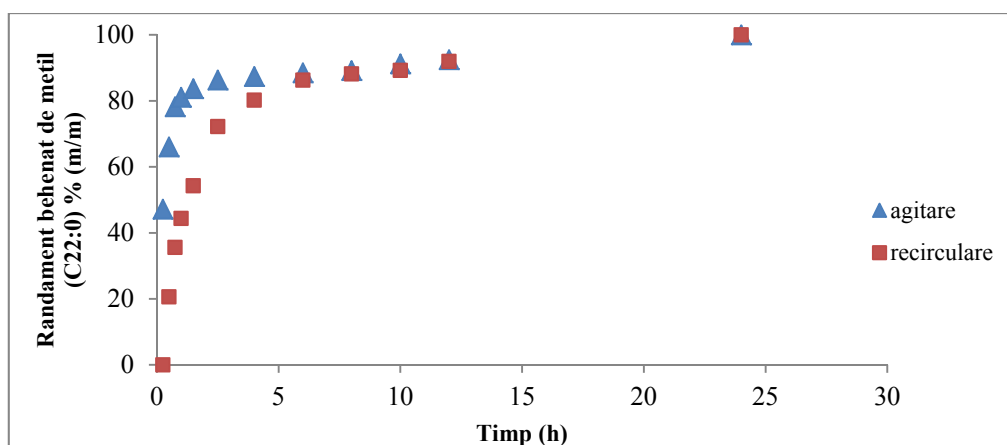
**Figura 5.18** Variația în timp a randamentului pentru oleatul de metil (C18:1) în procesul de metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



**Figura 5.19** Variația în timp a randamentului pentru linoleatul de metil (C18:2) în procesul de metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



**Figura 5.20** Variația în timp a randamentului pentru arahidatul de metil (C20:0) în procesul de metanoliză enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h



**Figura 5.21** Variația în timp a randamentului pentru behenatul de metil (C22:0) în procesul de metanoliză enzimatică a uleiului de floarea soarelui. Condiții de reacție: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), terț-butanol/ulei 6:1 (mol/mol), 10% Novozym 435, timp de reacție 24 h.

În cazul oleatului de metil (C18:1), unul din componenții majoritari ai biodieselului rezultat, se observă aceeași diferență substanțială a randamentului pentru zona de variație liniară. Astfel, pentru reacția cu agitare, după primele 15 min randamentul este de 23% (m/m), în timp ce pentru reacția cu deplasare conversia acidului oleic a fost practic inexistentă. Această diferență s-a constatat și după primele 4 h, când pentru reacția cu agitare randamentul a atins valoarea de 77,5% (m/m), iar pentru cea cu deplasare valoarea de numai 56,1% (m/m). După cele 24 h de reacție randamentul a atins valoarea 99,6% (m/m) pentru sistemul cu agitare, în timp ce pentru sistemul cu deplasare valoarea randamentului a fost de 96% (m/m) (Figura 5.18).

Esterul metilic al acidului linoleic este componentul majoritar al biodieselului obținut din uleiul de floarea soarelui. Din acest motiv modul de variație a randamentului acestuia influențează cel mai pregnant modul de variație a randamentului global în esteri (Figura 5.19). La fel ca și în cazul oleatului de metil, după primele 4 h de reacție, în care modul de variație este aproape liniar, randamentul a atins valoarea de 76,9% (m/m) pentru reacția cu agitare în timp ce pentru reacția cu deplasare valoarea atinsă a fost de 55,7% (m/m). După acest moment variația devine asimptotică, atingând maximumul de 98,4% (m/m) după 24 h pentru reacția cu agitare, respectiv de 95,6% (m/m) pentru reacția cu deplasare. Se poate observa, că aceste valori se regăsesc și pentru randamentul global în esteri după 24 h de reacție.

Ambele sisteme folosite pentru metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui, catalizată de Novozym 435, au dus la obținerea de randamente mai mari de 95% (m/m), după 24 h de reacție. Totuși, sistemul cu agitare continuă a dus la randamentul cel mai bun, și anume de 98,6% (m/m), în timp ce randamentul pentru reactorul tip coloană cu umplură și recirculare a fost de 95,6% (m/m). Diferența majoră dintre cele două sisteme de reacție poate fi observată pentru prima perioadă în care variația este liniară, unde sistemul cu agitare prezintă un avantaj net superior. Ulterior, această diferență scade ca urmare a problemelor cauzate de glicerolul rezultat ca produs secundar în cazul sistemului cu agitare, după cele 24 h de reacție aceasta fiind doar de 3%.

## Capitolul VI

### Caracterizare fizico-chimica biodiesel obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui

Biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui a fost analizat prin metode specifice în vederea determinării unor caracteristici fizico-chimice care să indice calitatea acestuia în comparație cu specificațiile de calitate impuse de standardul în vigoare pentru biodiesel, SR EN 14214:2010. În acest sens s-au determinat următoarele caracteristici fizico-chimice: conținut de esteri, densitate la 15°C, viscozitate la 40°C, punct de inflamabilitate, conținut de sulf, conținut de apă, indice de aciditate, indice de iod, conținut de metanol, conținut de mono-, di-, trigliceride, glicerol liber și total, conținut de Na, K, valoare energetică, valorile obținute fiind date în Tabelul 6.5. Aceste caracteristici sunt detaliate în continuare, evidențiindu-se influența lor directă asupra parametrilor de motor.

**Tabel 6.5.** Caracteristici fizico-chimice ale biodieselului obținut prin transesterificarea enzimatică a uleiului de floarea soarelui

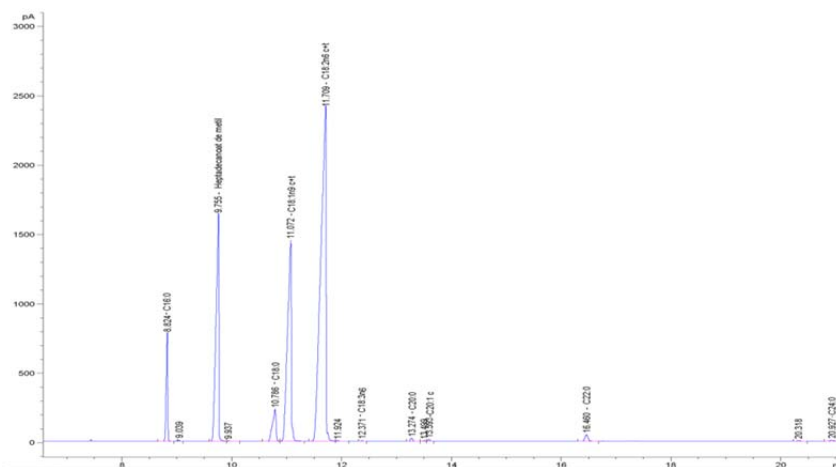
Caracteristica	UM	Valoare	Valori SR EN 14214:2010 [1]	
			min	max
Conținut de esteri	%	98.9	96.5	
Densitate la 15°C	kg/m <sup>3</sup>	890	860	900
Viscozitate la 40°C	mm <sup>2</sup> /s	4.36	3.50	5.00
Punct de inflamabilitate	°C	133	120	-
Conținut de sulf	mg/kg	0.10	-	10
Conținut de apă	mg/kg	479	-	500
Indice de aciditate	mg KOH/g	0.11		0.50
Indice de iod	g I <sub>2</sub> /100g	127		120
Conținut de metanol	%	0.003		0.20
Conținut de monogliceride	% (m/m)	0.65		0.80
Conținut de digliceride		0.17		0.20
Conținut de trigliceride	% (m/m)	0.01		0.20
Glicerol liber	% (m/m)	0.015		0.02
Glicerol total	% (m/m)	0.21		0.25
Conținut de - Na	mg/kg	<0.25		5
- K	mg/kg	0.11		5
Valoare energetică	MJ/Kg	32.7		

#### 3.1 Conținutul de esteri

Conținutul de esteri este o măsură a integralității reacției de transesterificare. O conversie mai mare a materiei prime în esteri determină o mai bună performanță a motorului. Conținutul de esteri din biodiesel poate varia foarte mult în funcție de diferitele tehnologii utilizate și de materiile prime disponibile. Standardul european pentru biodiesel, SR EN

14214:2010, stabilește o limită pentru conținutul de esteri de minimum 96.5% (m/m) în timp ce standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751 nu specifică o limită minimă pentru conținutul de esteri [7].

Conținutul de esteri determinat pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui s-a determinat prin gaz-cromatografie, având ca standard intern heptadecanoatul de metil, cromatograma obținută în urma analizei fiind prezentată în Figura 6.1.



**Figura 6.1** Cromatograma conținutului de esteri pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui

Datele astfel obținute au fost prelucrate, obținându-se o valoare pentru conținutul de esteri de 98,9 % (m/m), ceea ce indică o conversie aproape completă a trigliceridelor în esteri.

### 3.2 Densitatea la 15 °C

Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește un domeniu pentru densitatea la 15°C cuprins între 860 – 900 kg/m<sup>3</sup>. Standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, nu stabilește o limită pentru densitate și precizează faptul că densitatea biodieselului se încadrează între 860 și 900 kg/m<sup>3</sup> (valori tipice între 880 și 890 kg/m<sup>3</sup>) atunci când sunt îndeplinite celelalte specificații de calitate.

Valoarea densității pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea este de 890 kg/m<sup>3</sup>, încadrându-se în intervalul specificat de standardul de calitate SR EN 14214:2010.

### 3.3 Viscositatea la 40 °C

Viscositatea influențează curgerea combustibililor prin conducte, duzele și orificiile de injecție precum și intervalul de temperatură pentru buna funcționare a combustibilului în arzătoare. O viscositate ridicată poate cauza probleme la efectul de spray din injector care poate determina o cocsificarea excesivă și o diluare a uleiului. Aceste probleme sunt asociate cu o viață redusă a motorului.

Standardele de calitate specifică și o limită minimă a viscosității pentru a preveni uzura prin frecare produsă de combustibil asupra sistemului de injecție, ceea ce ar duce la scăderea puterii motorului. O viscositate care se încadrează în limitele cerute de standardele de calitate asigură o lubrifiere adecvată precum și caracteristici corespunzătoare de pompare [9]. Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește un domeniu pentru viscositate (40°C) cuprins între 3.5 – 5 mm<sup>2</sup>/s. În timp ce standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751 stabilește un domeniu pentru viscositate (40°C) cuprins între 1.9 – 6 mm<sup>2</sup>/s.

Biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui, are o valoare a viscozității de  $4.36 \text{ mm}^2/\text{s}$ , încadrându-se în intervalul impus de ambele standarde de calitate SR EN 14214:2010, respectiv ASTM 6751.

### 3.4 Punctul de inflamabilitate

Punctul de inflamabilitate determină inflamabilitatea materialului. În general, valoarea specificată în standardele de calitate pentru punctul de inflamabilitate este relativ ridicată din motive de siguranță și de transport și, de asemenea, pentru a se asigura că producătorii îndepărtează alcoolul din produsul finit. Puncte de inflamabilitate scăzute pot indica reziduuri de alcool în biodiesel.

Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru punctul de inflamabilitate de minimum  $120^\circ\text{C}$  în timp ce standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, stabilește o limită pentru punctul de inflamabilitate de minimum  $130^\circ\text{C}$ .

Punctul de inflamabilitate obținut pentru biodieselul rezultat în metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui a fost  $133^\circ\text{C}$  ceea ce corespunde cu cerințele de calitate impuse atât de standardul de calitate SR EN 14214:2010 cât și de ASTM D 6751.

### 3.5 Conținutul de sulf

Arderea în motoare a combustibililor care conțin sulf duce la formarea emisiilor de dioxid de sulf și de pulberi în suspensie. Limitele de sulf sunt, în general impuse pentru motive de mediu.

Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru conținutul de sulf de maximum  $10 \text{ mg/kg}$  în timp ce standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751 stabilește o limită pentru conținutul de sulf de maximum  $50 \text{ mg/kg}$ .

Pentru biodieselul obținut din ulei de floarea soarelui pe cale enzimatică conținutul de sulf obținut a fost de  $0.10 \text{ mg/Kg}$ , o valoare foarte scăzută comparativ cu limita maxima impusă de standardele de calitate, consecința imediată fiind directă o scădere considerabilă a emisiilor de dioxid de sulf.

### 3.6 Conținutul de apă

Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010 împreună cu standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, stabilesc o limită pentru conținutul de apă de maximum  $500 \text{ mg/kg}$ .

Conținutul de apă determinat pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui este de  $379 \text{ mg/Kg}$ , valoare ce corespunde cu cerințele de calitate impuse de standardele de calitate.

### 3.7 Indicele de aciditate

Aciditatea este un indiciu al prezenței acizilor grași liberi sau a acizilor formați ca urmare a degradării și a arderii uleiului (în timpul sau după prelucrare). Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru indicele de aciditate de maximum  $0.5 \text{ mg KOH/g}$ . Standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, stabilește o limită pentru indicele de aciditate de maximum  $0.80 \text{ mg KOH/g}$ .

Pentru biodieselul obținut pe cale enzimatică s-a obținut o valoare a indicelui de aciditate de  $0.11$  situându-se sub limita maximă impusă de standardele de calitate.

### 3.8 Indicele de iod

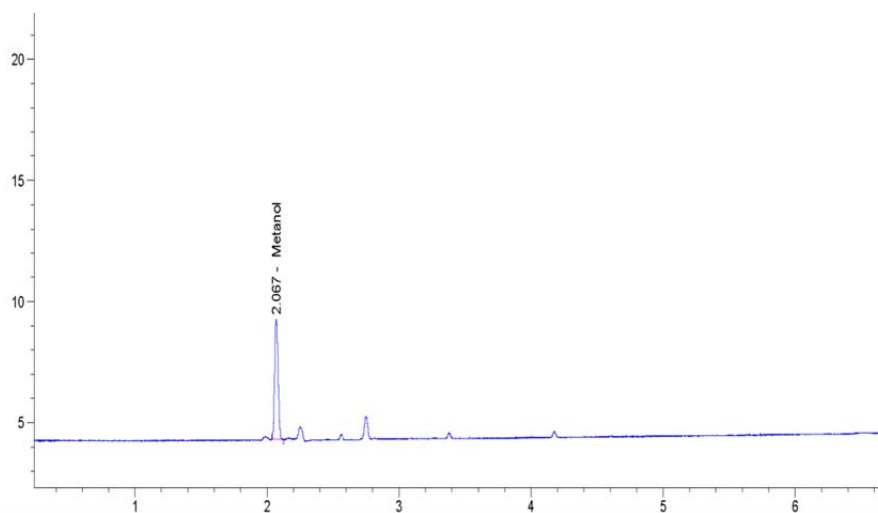
Pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui s-a obținut o valoare a indicelui de iod de  $127$ , depășind limita maximă impusă de standardul SR

EN 14214:2010, dar datele din literatură specifică un interval cuprins între 110-143 g I<sub>2</sub>/100 g pentru biodieselul obținut din ulei de floarea soarelui [16]. Dacă standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru indicele de iod de maximum 120 g I<sub>2</sub>/100g standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, nu stabilește o limită pentru indicele de iod. Indicele de iod cerut în standardul european de calitate pentru biodiesel limitează posibilitatea de a alege materia primă pentru obținerea de biodiesel, prezența acestui parametru în anumite standarde de calitate putând fi de fapt o tactică politică de limitare a importurilor anumitor materii prime în acest scop.

### 3.9 Conținutul de metanol

Valoarea pentru conținutul de metanol pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui este de 0.003 % (m/m), cromatograma fiind ilustrată în Figura 6.2. Valoarea se situează cu mult sub limita maximă admisă de standardul european de biodiesel SR EN 14214:2010 care este 0.2% (m/m).

Studiile din literatură au demonstrat că un conținut de metanol de numai 1% în biodiesel poate reduce punctul de inflamabilitate de la 170 °C la mai puțin de 40° C. Astfel prin introducerea unei specificații de calitate a punctului de inflamabilitate de minimum 120 °C, standardul european SR EN 14214:2010 limitează implicit cantitatea de alcool la un nivel foarte scăzut (<0.1%).

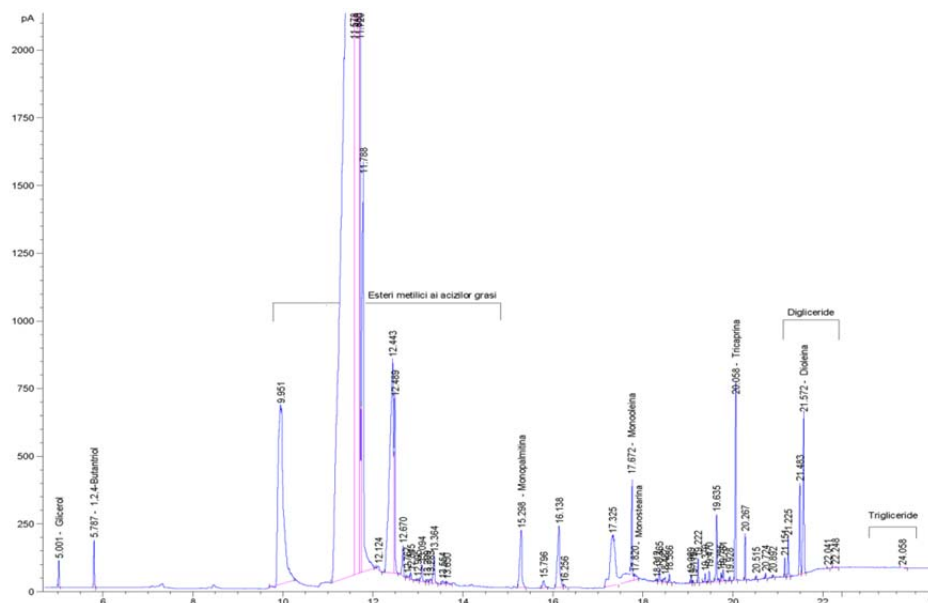


*Figura 6.2. Cromatograma obținută pentru determinarea metanolului din biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui.*

### 3.10 Conținutul de mono- di- și trigliceride, glicerol liber și glicerol total

Conținutul de mono-, di-, trigliceride, glicerol liber și glicerol total s-a determinat prin gaz cromatografie cu ajutorul a două standarde interne: 1,2,4-butantriolul (standardul intern folosit pentru cuantificarea glicerolului liber) și tricaprina (standardul interne folosit pentru cuantificarea mono-, di-, trigliceridelor). Cromatograma obținută în urma analizei este dată în Figura 4.

Pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui conținutul de mono-, di- și trigliceride, se încadrează în limitele impuse de standardele de calitate, având valori de 0.65% (m/m), 0.17% (m/m), respectiv de 0.01 % (m/m). Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru conținutul de monogliceride de maximum 0.8 % (m/m), pentru conținutul de digliceride de maximum 0.2 % (m/m) iar pentru conținutul de trigliceride de maximum 0.2 % (m/m). Standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, nu stabilește o limită pentru conținutul de mono-, di-, și trigliceride.



**Figura 6.3** Cromatograma obținută pentru determinarea conținutului de glicerol, mono-, di- și trigliceride din biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui

În ceea ce privește conținutul de glicerol liber, pentru biodieselul obținut pe cale enzimatică s-a obținut valoarea de 0.015 % (m/m), sub limita maximă impusă de standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010 și de standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, și anume 0.02 % (m/m).

Conținutul total de glicerol obținut pentru biodieselul enzimatic este de 0.21% (m/m), aproape de limita maximă impusă de standardele de calitate pentru biodiesel. Astfel standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru conținutul de glicerol total de maximum 0.25 % (m/m) în timp ce limita impusă de standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, este de 0.24 % (m/m).

### 3.11 Conținutul de Na, K

În cazul biodieselului obținut pe cale enzimatică această analiză a completat doar restul caracteristicilor deoarece nefolosindu-se catalizatori alcalini, aceste metale pot să sugereze doar prezența unor contaminații din timpul procesului de obținere sau de depozitare. Valorile obținute pentru Na și K sunt foarte mici, pentru Na fiind mai mică decât limita de cuantificare a metodei în timp ce pentru K valoarea este de 0.11 mg/Kg. Standardul european pentru biodiesel, SR EN 14214:2010, stabilește o limită pentru conținutul de metale din grupa I (Na, K) de maximum 5 mg/kg și pentru conținutul de metale din grupa II (Ca, Mg) de maximum 5 mg/kg. Standardul american pentru biodiesel, ASTM D 6751, nu stabilește o limită pentru conținutul de metale alcaline.

### 3.12 Valoarea energetică (puterea calorică)

Pentru biodieselul obținut prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui s-a obținut o valoare energetică de 32.7 MJ/Kg, valoare care corespunde cu datele existente în literatură. [18]

Deși datorită prezenței oxigenului valoarea energetică a biodieselului este în general mai mică decât cea a motorinei, (o valoare medie de 37.2 MJ/Kg comparativ cu 43.8 MJ/Kg pentru motorină), aceasta este în același timp mult mai puțin variabilă, și depinde în special de materia primă utilizată și nu de procesul de obținere.



## Capitolul VII

### Concluzii

În urma parcurgerii metodologiei de cercetare a tezei cu titlul *Investigații privind obținerea combustibililor de tip biodiesel pe cale enzimatică*, pot fi prezentate următoarele concluzii privind obținerea de combustibil de tip biodiesel prin metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui :

- Uleiul de floarea soarelui prezintă un conținut destul de ridicat de acizi grași polinesaturați ceea ce îi conferă unele dezavantaje cu privire la stabilitatea la oxidare și la depozitare. Acest grad de nesaturare mai ridicat pentru uleiul de floarea soarelui se regăsește și în valoarea indicelui de iod. Valoarea determinată pentru indicele de aciditate indică un conținut foarte redus de acizi grași liberi, iar valorile pentru conținutul de apă și pentru conținutul de sulf sunt mult sub limitele impuse de standardul de calitate pentru biodiesel SR EN 14214:2010. În același timp, conținutul ridicat de acizi grași nesaturați îi conferă și avantaje, precum: creșterea posibilității de utilizare a biodieselului pe timp de iarnă, ceea ce este de mare interes pentru țările cu climat rece, precum și o performanță mai bună a motorului, ca urmare a unui conținut energetic mai ridicat.
- Dintre enzimele testate în cadrul procesului de screening pentru metanoliza enzimatică a uleiului de floarea soarelui, lipaza B din *Candida antarctica*, sub formă imobilizată pe rășină acrilică (Novozym 435) s-a dovedit a fi cea mai eficientă pentru conversia trigliceridelor în biodiesel.
- Condițiile optime de reacție pentru reacția catalizată Novozym 435 s-au dovedit a fi următoarele: metanol/ulei 6:1 (mol/mol), *terț*-butanol/ulei 6:1 (v/v), 10% Novozym 435 în raport cu cantitatea de ulei.
- Folosind aceste condiții optime de reacție s-a urmărit variația în timp a randamentului reacției pentru două sisteme de reacție: sistem cu agitare folosind un reactor de tip *batch* respectiv, sistem cu deplasare continuă și recirculare folosind un reactor tip coloană cu umplură. Pentru ambele sisteme s-au obținut randamente mai mari de 95% (m/m), după 24 h de reacție. Totuși, sistemul cu agitare continuă a dus la randamentul cel mai bun și anume, de 98,6% (m/m), în timp ce randamentul pentru reactorul tip coloană cu umplură și recirculare a fost de 95,6% (m/m), Acest lucru s-a datorat avantajului net superior al reacției cu agitare continuă pentru prima perioadă (primele 4 h) când, datorită agitării, enzima este în contact cu toată cantitatea de ulei, ceea ce duce la o viteză mai mare de reacție.
- Biodieselul obținut în urma procesului de metanoliză enzimatică a uleiului de floarea soarelui, a fost testat în vederea determinării următoarelor caracteristici fizico-chimice: conținutul de esteri, densitatea la 15°C, viscozitatea la 40°C, punctul de inflamabilitate, conținutul de sulf, conținutul de apă, indicele de aciditate, indicele de iod, conținutul de metanol, conținutul de mono-, di-, trigliceride, glicerol liber și total, conținutul de Na, K, valoarea energetică. Datele obținute au demonstrat faptul că pentru caracteristicile fizico-chimice testate, biodieselul rezultat îndeplinește cerințele de calitate specificate de standardul european SR EN 14214: 2010, cu excepția indicelui de iod. Acest lucru însă se datorează materiei prime – uleiul de floarea soarelui – și nu procesului de obținere, standardul european fiind unul specific pentru biodieselul din ulei de rapiță, limitând materia primă care poate fi utilizată pentru obținerea de biodiesel.

**Bibliografie selectivă**

1. SR EN 14214:2010:2004 *Carburanți pentru automobile. Esteri metilici ai acizilor grași (EMAG) pentru motoare diesel. Cerințe și metode de încercare.*
5. Prankl H., *High biodiesel quality required by European Standards*, European J Lipid Science and Technology; 104:371-375, **2002**.
6. Royon, D., Daz, M., Ellenrieder, G., Locatelli, S., *Enzymatic production of Biodiesel from cotton seed oil using t-butanol as a solvent*, Bioresour. Technol. 96, 767-777, **2007**.
7. American Society for Testing and Materials, *Standard Specification for Biodiesel Fuel (B100) Blend Stock for Distillate Fuels, Designation D6751-02*, ASTM International, West Conshohocken, PA, **2002**.
9. [www.worldenergy.net/Dec\\_22\\_2001/Cummins%20aug%2030%202001.pdf](http://www.worldenergy.net/Dec_22_2001/Cummins%20aug%2030%202001.pdf)
16. Knothe G., Dunn R.O., Bagby, M.O., *Biodiesel: The Use of Vegetable Oils and Their Derivatives as Alternative Diesel Fuels.*, National Centre for Agricultural Utilization Research, US Department of Agriculture, USA, **1997**, <http://www.biodiesel.org>.
18. Bajpai, D., Tyagi, V.K., *Biodiesel: Source, Production, Composition, Properties and Its Benefits*, J. Oleo Sci., **2006**,(55):10, 487-502.