

## BIOTECNOLOGIE.

# Energia pulita: l'uso di enzimi immobilizzati nella produzione di biodiesel

INTERESSANTI PROSPETTIVE PER UNA SPERIMENTAZIONE AVVIATA PRESSO L'UNIVERSITÀ DI CAGLIARI

Con la ratifica del protocollo di Kyoto, anche l'Italia si è impegnata a ridurre le emissioni di gas serra nei prossimi anni. Ciò può essere effettuato incrementando l'utilizzo di fonti energetiche rinnovabili a discapito dell'energia prodotta da combustibili fossili. Tra le fonti energetiche rinnovabili le biomasse agricole e forestali solide, liquide e gassose costituiscono un'importante frazione del totale comprendente il solare termico e fotovoltaico e l'eolico.

La produzione di energia da biomasse avviene mediante combustione delle stesse. La quantità di anidride carbonica (CO<sub>2</sub>) prodotta nel processo è pari a quella assorbita dalle piante nel processo fotosintetico. Il ciclo globale di produzione energetica avviene con emissioni nulle di CO<sub>2</sub>, a differenza di quanto avviene con l'utilizzo di combustibili fossili (carbone e petrolio).

Tra le diverse fonti energetiche assume un'importanza notevole il biodiesel, combustibile liquido ottenibile da biomasse, e un suo metodo di produzione innovativo mediante catalisi enzimatica.

Il biodiesel è una miscela di esteri metilici di acidi grassi (FAME: *fatty acid methyl ester*) ottenuta dalla reazione di transesterificazione di trigliceridi, i principali costituenti di oli e grassi, con metanolo in presenza di un catalizzatore. La reazione produce inoltre glicerolo, sottoprodotto che - dopo essere stato raffinato - può essere venduto alle industrie farmaceutiche e cosmetiche.

**Vantaggi del biodiesel.** Così come gli altri combustibili ottenuti da biomasse, il biodiesel dà luogo ad un ciclo chiuso della CO<sub>2</sub>. Inoltre possiede altri vantaggi rispetto al gasolio di origine petrolifera. Vediamoli.

- diminuzione dell'emissione di altri gas inquinanti nell'atmosfera, quali monossido di carbonio (CO) e biossido di zolfo (SO<sub>2</sub>);<sup>1</sup> questi gas sono ritenuti tra i responsabili, assieme alla CO<sub>2</sub>, dell'effetto serra:

- I. *monossido di carbonio*: tali emissioni sono inferiori del 40% rispetto al gasolio petrolifero. Oltre al fattore inquinante l'altro problema legato al CO è la sua origine dovuta a cattiva combustione, in quanto si produce in carenza di ossigeno. L'ossigeno contenuto nei combustibili vegetali (mediamente il 10% nel biodiesel contro il 2% nel gasolio) favorisce la combustione completa e diminuisce così le emissioni di CO;

- II. *biossido di zolfo*: l'emissione di SO<sub>2</sub>, il principale responsabile delle piogge acide, è praticamente nulla essendo quasi uguale a zero il contenuto di zolfo del biodiesel (< 0.001%).

- Diminuzione delle polveri sottili e del particolato incombusto in misura del 40-50%. L'elevato livello di polveri sottili è tra le cause principali della chiusura al traffico di molte città italiane.

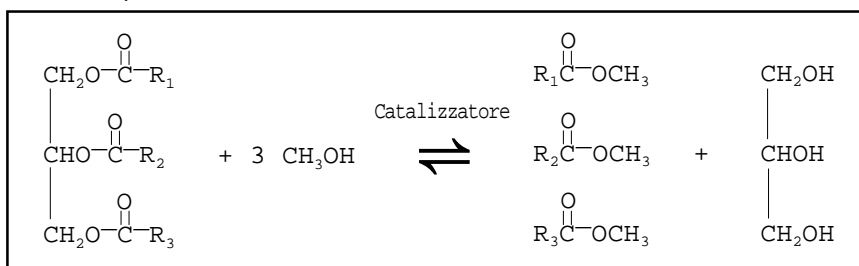
- Non contiene benzene o altri componenti cancerogeni, quali idrocarburi policiclici aromatici (PAH): componenti estremamente dannosi per l'uomo, con effetti citotossici, cancerogeni, mutagenici e respiratori cronici.<sup>2</sup>

- Elevata biodegradabilità, data dalla sua catena lineare di atomi di carbonio, con atomi di ossigeno ad un'estremità e quindi facilmente attaccabile da parte dei microrganismi. Al contrario, il gasolio di origine fossile, che oltre

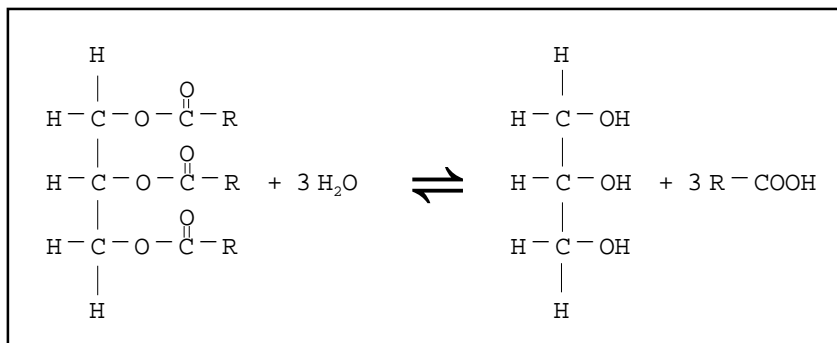
L'AUTORE.

**Andrea Salis**, dottore di ricerca in Chimica, è attualmente assegnista di ricerca presso il Dipartimento di Scienze Chimiche dell'Università degli Studi di Cagliari. telefono: 070.675.4362 fax: 070.675.4388 e-mail: asalis@unica.it

Partecipano alla ricerca ed hanno collaborato alla stesura di questo articolo la dott.ssa **Marcella Pinna**, la prof.ssa **Maura Monduzzi** e il prof. **Vincenzo Solinas**.



**SCHEMA 1.** REAZIONE DI PRODUZIONE DEL BIODIESEL: DA UNA MOLECOLA DI TRIGLICERIDE E TRE MOLECOLE DI ALCOL METILICO SI OTTENGONO TRE MOLECOLE DI FAME ED UNA DI GLICEROLO.



**SCHEMA 2.** REAZIONE DI IDROLISI DEI TRIGLICERIDI CATALIZZATA IN NATURA DALLE LIPASI.

a numerosi alcani ed alcheni a catena lunga (C<sub>10</sub> - C<sub>20</sub>) privi di ossigeno, include anche idrocarburi ciclici alifatici, idrocarburi policiclici aromatici e alchilbenzeni, è in generale tossico per i microrganismi. Il biodiesel invece viene degradato per il 99,6 % dopo 21 giorni e, in caso di dispersione accidentale, non inquina né acque né suolo.

- Possiede un alto potere lubrificante e diminuisce l'usura del motore.
- Presenta un elevato punto di infiammabilità (>1100 °C), per cui non è classificato come

materiale pericoloso ed è facile e sicuro da utilizzare.

- Non contiene metalli nocivi quali Cd, Pb, V.

Tutte queste caratteristiche fanno del biodiesel un valido sostituto del gasolio di origine petrolifera, e può essere perciò utilizzato come carburante nei motori diesel (automobili, mezzi di trasporto pubblici, macchine agricole), o come combustibile negli impianti di riscaldamento.

**Processi industriali nella produzione del biodiesel.** In pratica tanto gli oli e i grassi vegetali, siano essi originali o di scarto, quanto i grassi animali sono potenzialmente adatti alla produzione di biodiesel. Oli vegetali, come quelli di girasole e colza, vengono impiegati in tutto il mondo in numerosi impianti per il biodiesel. Si è stimato che nel 1999 erano in esercizio una novantina di

impianti, per una produzione mondiale di circa 1,3 miliardi di litri di biocarburante.

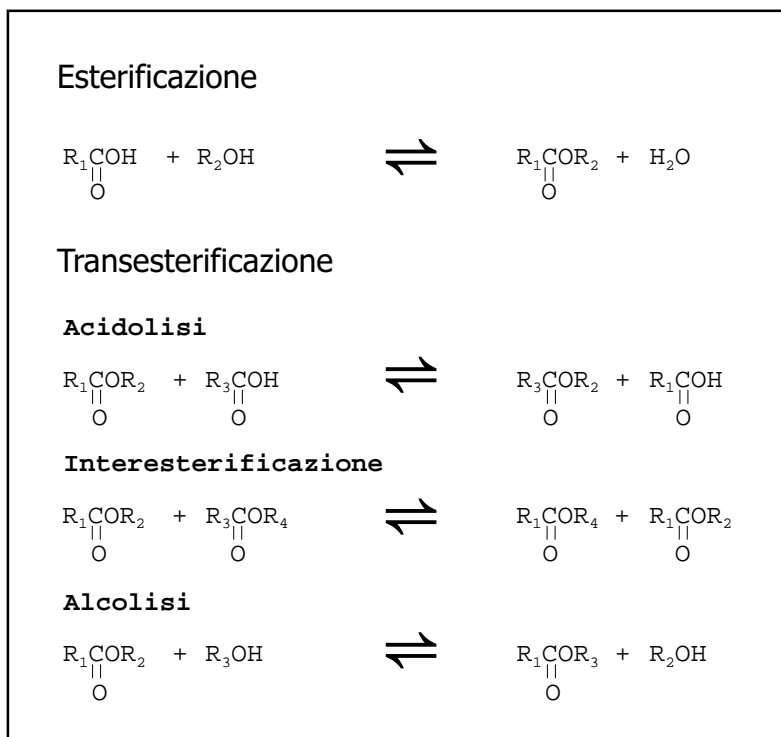
Le materie prime più utilizzate sono l'olio di colza, di girasole, di soia, di palma e di oliva. Sono impiegabili perfino oli esotici come l'olio di noce di *Jatropha* del Nicaragua. Se si considera l'olio di colza, in Europa centrale da un ettaro di terreno si ottengono 1,2 t di olio, che vengono interamente trasformate in biodiesel. Come sottoprodotto della macinazione della colza, si ottengono circa 2 t di mangime ad alto valore proteico, mentre dall'esterificazione dell'olio si ricavano 100 kg di glicerolo e circa 30 kg di concime potassico.

Il biodiesel può essere prodotto anche utilizzando grassi od oli alimentari di rifiuto. Da 1 t di questi si ricava quasi 1 t di biodiesel, a seconda della quantità di scorie presenti nella materia prima. La maggior quota di grasso alimentare di rifiuto deriva da frittore, per lo più di ristoranti e alberghi. Questi vengono per la maggior parte già raccolti e riutilizzati dalle fabbriche di mangimi. Le quantità di grassi e oli di rifiuto domestico rimangono invece inutilizzate e vengono solitamente eliminate negli scarichi domestici, causando l'inquinamento del sistema delle acque di scarico.

In Italia, come fonti di trigliceridi, sono stati finora utilizzati olii provenienti da piante facilmente coltivabili, quali girasole, colza e soia.<sup>3</sup>

La produzione industriale del biodiesel avviene per via chimica, mediante catalizzatori alcalini (KOH, NaOH o CH<sub>3</sub>ONa). Sebbene efficiente in termini di resa e tempo di reazione, l'approccio chimico alla sintesi del biodiesel presenta diversi svantaggi:

- il processo avviene a pressioni e temperature elevate;
- si ha formazione di sottoprodotti, come acidi grassi liberi, mono e digliceridi<sup>4</sup> che devono essere rimossi attraverso diversi passaggi di purificazione;



**SCHEMA 3.** REAZIONI CATALIZZATE DALLE LIPASI IN MEZZI NON CONVENZIONALI (A BASSO CONTENUTO D'ACQUA).

- il recupero del glicerolo è più difficile.

Sia la conduzione del processo di produzione che i successivi trattamenti di purificazione richiedono consumo di energia. Ciò va ad annullare parzialmente i vantaggi energetici ed ambientali derivanti dall'utilizzo del biodiesel.

**Metodi innovativi di produzione: la catalisi enzimatica.** A causa degli svantaggi sopra elencati dei processi tradizionali, la ricerca scientifica ha rivolto la sua attenzione verso vie innovative per la produzione del biodiesel. Nel laboratorio di biocatalisi del Dipartimento di Scienze Chimiche dell'Università di Cagliari è attualmente in corso una ricerca a carattere industriale per la produzione di biodiesel mediante catalisi enzimatica<sup>5,6</sup>.

Gli enzimi, catalizzatori delle reazioni chimiche negli organismi viventi, operano in condizioni blande di temperatura, pressione e pH con un'elevata selettività. Il loro utilizzo come catalizzatori biotecnologici offre una valida alternativa ai processi catalitici tradizionali. Gli enzimi più adatti per la produzione del biodiesel sono le lipasi. Esse (triacilglicerol idrolasi; E.C. 3.1.1.3) in natura catalizzano l'idrolisi dei trigliceridi (schema 2).

Le lipasi conservano la loro attività catalitica anche in mezzi non convenzionali (a basso contenuto d'acqua) come solventi organici, liquidi ionici, sistemi *solvent-free* e fluidi supercritici. L'importanza dell'utilizzo delle lipasi nei mezzi non convenzionali è dovuta alla possibilità di questo enzima di catalizzare anche la reazione inversa all'idrolisi (l'esterificazione) insieme a un'ampia gamma di reazioni (transesterificazioni) importanti dal punto di vista della sintesi (schema 3).

L'utilizzo di lipasi per la produzione del biodiesel permette anche di ottenere agevolmente il glicerolo e gli esteri ad elevato grado di purezza<sup>7</sup>.

I vantaggi della biocatalisi rispetto alla catalisi chimica tradizionale sono dovuti alla possibilità di operare a pressione atmosferica e temperatura ambiente, o comunque non troppo elevate, garantendo un basso consumo energetico, nonché alla loro elevata selettività e specificità.

Gli enzimi industriali vengono prodotti da microorganismi (lieviti, funghi e batteri) mediante processi fermentativi. Alcune delle lipasi più utilizzate nei processi biotecnologici provengono dalla *Candida rugosa* (figura 1), da *Candida antarctica*,<sup>8</sup> da *Pseudomonas fluorescens*,<sup>9</sup> *Rhizomucor miehei*,<sup>7,10</sup> *Pseudomonas cepacia*,<sup>7</sup> ecc..

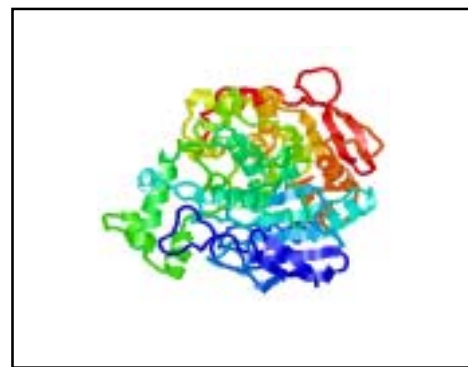
**L'immobilizzazione enzimatica.** Gli elevati costi di produzione, e soprattutto, di purificazione degli enzimi possono essere abbattuti mediante la tecnica dell'immobilizzazione. Questa soluzione presenta diversi vantaggi<sup>11</sup>:

- possibilità di riutilizzare l'enzima in più cicli operativi, grazie alla possibilità di recuperare il catalizzatore a fine reazione mediante semplice filtrazione;
- possibilità di operare in continuo con reattori PFR o CSTR;
- garanzia di una maggiore stabilità operativa dell'enzima alla denaturazione, dovuta a variazioni di pH, temperatura o all'attacco di muffe e microrganismi.

Il supporto utilizzato per l'immobilizzazione deve presentare determinate caratteristiche, in termini di proprietà meccaniche (tendenza alla rottura, compressibilità), morfologiche (dimensioni delle particelle, diametro dei pori, area superficiale specifica)<sup>12</sup> e chimiche (interazioni coi substrati, ripartizione dell'acqua, tipo di interazione con gli enzimi).

**Conclusioni.** L'uso del biodiesel in sostituzione del gasolio da petrolio non solo fornisce un importante contributo al raggiungimento dei parametri di Kyoto con la diminuzione delle emissioni di CO<sub>2</sub>, ma permette anche di promuovere il rilancio dell'agricoltura in zone ad elevata vocazione ma con terreni degradati o non adatti a colture di maggior pregio. L'utilizzo di enzimi immobilizzati nel processo produttivo del biodiesel, può rappresentare una occasione di sviluppo industriale ad elevata tecnologia innovativa di processi a basso impatto ambientale.

ANDREA SALIS



**FIGURA 1.** STRUTTURA AI RAGGI X DELLA LIPASI DA *CANDIDA RUGOSA*, UNA DELLE LIPASI PIÙ USATE NEI PROCESSI BIOTECNOLOGICI.

## BIBLIOGRAFIA

- 1) M. Mittebach, P. T. *Journal of the American Oil Chemist's Society* **1988**, 65.
- 2) J. Bunger; J. Krahl; K. Schroder; M. Muller; G. Westphal; P. Ruhnu; T. G. Schulz; Hallier E. *Archives of Toxicology* **2000**, 74, 490.
- 3) S. Bona, G. M., T. Vamerali. *Renewable Energy* **1999**, 16, 1053.
- 4) Fangrui Ma, M. A. H. *Bioresource Technology* **1999**, 70, 1.
- 5) Pinna, M. *Tesi di Laurea in Chimica: "Catalisi enzimatica nella produzione di biodiesel"*, Università di Cagliari, **2004**.
- 6) Salis, A.; Pinna, M.; Monduzzi, M.; Solinas, V. *Journal of Biotechnology* **2005**, In Press.
- 7) Hideki Fukuda, A. K., Hideo Noda *Journal of Bioscience and Bioengineering* **2001**, 92, 405.
- 8) O. Kose, M. T., H.A. Aksoy. *Bioresource Technology* **2002**, 83, 125.
- 9) Iso, M.; Chen, B.; Eguchi, M.; Kudo, T.; Shrestha, S. *Journal of Molecular Catalysis -B: Enzymatic* **2001**, 16, 53.
- 10) Shieh, C.-J.; Liao, H.-F.; Lee, C.- C. *Bioresource Technology* **2003**, 88, 103.
- 11) R. Verga, M. S. P. *Biochimica Industriale: 2002*, Milano, **2002**.
- 12) Salis, A.; Sanjust, E.; Solinas, V.; Monduzzi, M. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2003**, 24-25, 75.