



# ESTUDO DAS REAÇÕES DE ALCOÓLISE PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZANDO LIPASES SIMPLES E COMBINADAS

Carina B. Lopes\*, Luciana F. Fleuri, Gabriela A. Macedo

\*cbranta@gmail.com

Apoio Financeiro SAE SERVIÇO DE APOIO AO ESTUDANTE

Palavras-chave: biodiesel, lipase, alcoólise



## INTRODUÇÃO

O biodiesel é definido como um éster mono-alquílico de ácidos graxos de cadeia longa sintetizado pela transesterificação de um triglicerídeo, em óleo vegetal ou gordura animal, com álcool.

O biodiesel tem sido testado como fonte alternativa desde a crise energética na década de 1970 por ser um biocombustível não tóxico, biodegradável e fonte renovável de energia podendo ter um desenvolvimento sustentável no futuro; além de trazer benefícios ao meio ambiente que incluem a diminuição da emissão de partículas e gases que contribuem para o efeito estufa como CO, CO<sub>2</sub>, SO<sub>x</sub>.

Atualmente, o biodiesel tem sido produzido quimicamente usando óleo vegetal na Europa e nos Estados Unidos. A necessidade de remoção do catalisador e as excessivas exigências energéticas são as principais desvantagens desse processo químico.

O uso de lipase para a produção de biodiesel tem mostrado resultados promissores nos últimos anos, mas as pesquisas nesse campo ainda estão em progresso por causa da flexibilidade da enzima e do elevado custo para comercialização da mesma como catalisadora. Na rota enzimática, o subproduto glicerol pode ser facilmente removido sem demandar qualquer processo complexo de separação. Além disso, ácidos graxos livres contidos em óleos, que podem ser utilizados como matéria-prima, também são completamente convertidos a alquil ésteres.

Este estudo descreve os experimentos e resultados obtidos, quanto a produção de lipases pelos fungos *Rhizopus* sp., *Geotrichum* sp., *Aspergillus* sp. n°1068 e *Aspergillus* sp. n°1099 e aplicação isolada dessas enzimas na alcoólise dos óleos de soja, mamona e pinhão manso.

## METODOLOGIA

Foram produzidas lipases microbianas a partir das linhagens *Rhizopus* sp., *Geotrichum* sp., *Aspergillus* sp. n°1068 e *Aspergillus* sp. n°1099, pertencentes ao Laboratório de Bioquímica de Alimentos da FEA. Para a produção destas lipases, os microrganismos *Rhizopus* sp., *Aspergillus* sp. n°1068 e *Aspergillus* sp. n°1099 foram cultivados através de fermentação sólida utilizando farelo de trigo umedecido com água como meio de cultura; enquanto que o fungo *Geotrichum* sp. foi cultivado através de fermentação líquida em meio de cultura composto de 13% de água de milho-cinza; 2,3% de nitrato de amônio e 0,6% de óleo de soja. As enzimas obtidas foram concentradas por precipitação com sulfato de amônio até 80% de saturação e, em seguida, liofilizadas.



Figura 1. Vegetais dos quais se extraíram os óleos utilizados nas reações de hidrólise por lipases: (a) mamona; (b) soja; (c) pinhão manso

Foi estudada a aplicação dessas enzimas em reações de alcoólise dos óleos de mamona, soja e pinhão manso. As reações foram conduzidas em frascos de vidro contendo 1:1 moles de óleo e etanol e 1% de enzima em relação à massa total dos reagentes. Os frascos foram incubados em banho-maria a 40°C por 72h, sendo que em 24 e 48h foi adicionado 0,5 mol de etanol em cada tempo. Foi preparado um branco (sem adição da enzima) para cada óleo estudado. Aliquotas de cada sistema foram aplicadas na cromatografia em camada delgada realizada em placas de sílica gel, utilizando como fase móvel éter de petróleo:éter etílico:ácido fórmico na proporção (210:90:0,4, v:v:v) à temperatura de 25°C, e como revelador ácido sulfúrico (10%) em etanol, seguido de aquecimento a 100°C. Os ésteres, produtos da reação de alcoólise, foram comparados com o padrão palmitato de etila.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Produção de lipases microbianas e atividade enzimática

As atividades de lipases e a concentração de proteínas foram determinadas nas preparações enzimáticas brutas de lipases.

Tabela 1. Atividade Específica das Lipases.

Lipases	Atividade Específica (U/mg)	Atividade Específica utilizada no experimento*
<i>Rhizopus</i> sp.	258,38	10.852,29
<i>Geotrichum</i> sp.	133,54	5.608,93
<i>Aspergillus</i> sp. n°1068	91,79	3.855,27
<i>Aspergillus</i> sp. n°1099	159,39	6.694,77

\*Atividade Específica utilizada no experimento de hidrólise, correspondente a 1% de enzima em relação à massa total de reagentes.

### Estudo da reação de alcoólise dos óleos de mamona, soja e pinhão por diferentes lipases

Neste experimento, foram detectados produtos obtidos da reação de alcoólise catalisada pela enzima *Rhizopus* sp., tanto para o óleo de soja (Figura 2) como para os óleos de mamona (Figura 3) e pinhão manso (Figura 4). Comparando-se as manchas dos produtos de reação evidenciadas na cromatografia em camada delgada com um padrão de éster de ácido graxo, a enzima parece não ter produzido biodiesel (éster de ácido graxo) por alcoólise utilizando óleos de soja, mamona e pinhão manso (Figura 1, 2 e 3).

As enzimas de *Aspergillus* sp. 1068, *Aspergillus* sp. 1099 e *Geotrichum* sp. não foram capazes de realizar reações de alcoólise nas condições experimentais e de avaliação (Figura 1,2 e 3).

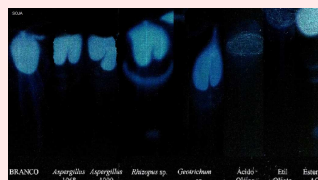


Figura 2. Cromatografia em camada delgada dos produtos das reações de alcoólise do óleo de soja, na presença de etanol e lipases de diferentes fontes.

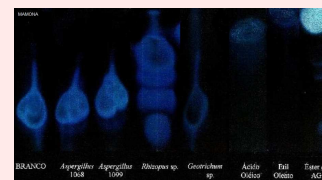


Figura 3. Cromatografia em camada delgada dos produtos das reações de alcoólise do óleo de mamona, na presença de etanol e lipases de diferentes fontes.

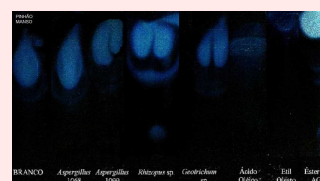


Figura 4. Cromatografia em camada delgada dos produtos das reações de alcoólise do óleo de pinhão manso, na presença de etanol e lipases de diferentes fontes.

## CONCLUSÃO

Todos os fungos estudados produziram lipases, sendo que a linhagem de *Rhizopus* sp. apresentou a maior atividade específica após concentração por precipitação com sulfato de amônio 80% de saturação, seguido de diálise e liofilização. Foram detectados produtos das reações de alcoólise, apenas nas reações catalisadas pela enzima *Rhizopus* sp. para os três óleos estudados (soja, mamona e pinhão manso). As enzimas de *Aspergillus* sp. 1068, *Aspergillus* sp. 1099 e *Geotrichum* sp. não foram capazes de realizar reações de alcoólise nas condições experimentais e de avaliação.