

# ESTUDO DA HIDRÓLISE DE ÓLEO DE SOJA POR LIPASE DE *Geotrichum candidum* COMO ETAPA PRELIMINAR PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Maldonado, R.R.; Fogaça, F.M., Ramos, G.G.; Macedo, G.A. and Rodrigues, M.I.

Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Cidade Universitária Zeferino Vaz, 13083-970, Campinas-SP, Brasil

Palavras-Chaves: Lipase – Hidrólise - Óleo de soja – Biodiesel - Delineamento experimental - *Geotrichum*

## 1. INTRODUÇÃO

Processos de hidrólise enzimática são bastante estudados devido ao fato de apresentarem inúmeras vantagens em relação aos seus análogos químicos, tais como redução do gasto energético, menor formação de resíduos e sub-produtos, maior especificidade e variedade de produtos obtidos.

Há um grande crescimento de estudos relacionados a obtenção e utilização de hidrolisados de óleos vegetais nos últimos anos.

## 2. OBJETIVOS

- Otimizar a produção de ácidos graxos livres a partir da hidrólise enzimática de óleos vegetais (soja e mamona) utilizando lipase de *Geotrichum* sp.;
- Reduzir a quantidade de água necessária para a realização do processo de hidrólise, com vistas a aplicação do hidrolisado na reação de transesterificação para produção de biodiesel.

## 3. MATERIAIS E MÉTODOS

### 3.1. Fermentação

O microrganismo para obtenção da enzima é o *Geotrichum candidum*. O inóculo é obtido a partir da metodologia estudada por Maldonado (2006), com tempo de inóculo de 15 horas. O meio de fermentação utilizado contém 8% de água de maceração de milho e 0,5% de óleo de soja e pH inicial igual a 7,0. A fermentação é realizada no período de 24 horas e a solução enzimática obtida a partir do caldo bruto submetida a filtração.

### 3.2. Ensaios Preliminares de hidrólise enzimática de óleos vegetais

Foram realizados testes preliminares para hidrólise do óleo de soja com dois sistemas de agitação diferentes (sistema de frascos agitados e agitação magnética).

➤ Sistema de frasco agitados: 0,5 g de óleo de soja em cada ensaio, 70 U lipase/g óleo, 10% m água/m óleo; 150 rpm de agitação e 37°C de temperatura.

➤ Sistema com agitação magnética: 2,0g de óleo de soja em um reator encamisado com as condições apresentadas na tabela 1.

### 3.3. Deliniamento experimental para hidrólise enzimática de óleos vegetais

A partir dos resultados obtidos nas etapas anteriores decidiu-se realizar um delineamento completo para hidrólise de óleo de soja com LS para avaliar as variáveis independentes concentração de LS, concentração de água e agitação.

### 3.4. Métodos analíticos

#### 3.4.1. Determinação da atividade lipolítica.

A determinação da atividade lipolítica da enzima a ser utilizada será feita pelo método descrito por Freire *et al* (1997) que utiliza goma arábica para a formação de uma emulsão de triglicerídeos de óleo de oliva. O método é baseado na titulação dos ácidos graxos liberados pela ação da enzima lipase sobre os triglicerídeos de óleo de oliva emulsionados.

#### 3.4.2. Determinação da quantidade de ácidos graxos livres no meio reacional

A determinação da quantidade de ácidos graxos livres realizada mediante titulação das amostras obtidos da reação de hidrólise utilizando solução de NaOH 0,05 mol/L.

➤ Titulador automático Mettler Toledo até pH final 11.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1. Teste de hidrólise em frascos agitados

Após 12 horas de processo obteve-se resultado médio de (35,7±2,6)% de hidrólise.

O ensaio foi realizado em triplicata, cujos resultados estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 – Resultados dos ensaios preliminares da hidrólise do óleo de soja em frascos agitados

Lipase (U/g óleo)	Água (%m/m)	Agitação (rpm)	Hidrólise (%)
70	10	150	33,5
70	10	150	35,0
70	10	150	38,5

Neste experimento obteve-se um percentual de hidrólise semelhante aos encontrados no período anterior do projeto (2008-2009) em que o melhor resultado obtido foi de (31±5,3)% para concentração enzimática de 350 U lipase/g óleo. A principal diferença entre o meio reacional anterior e o atual é que houve uma redução bastante grande da quantidade de enzima utilizada, o que permitiu melhor homogeneização do sistema, o que facilitou o processo de agitação.

### 4.2. Teste de hidrólise com agitação magnética

Os testes foram realizados com temperaturas de 34 e 40°C. O aumento da quantidade de água e aumento da temperatura praticamente não alteraram as taxas de hidrólise, que se mantiveram na faixa entre 20 e 25%. Estas taxas de hidrólise mostraram-se menores do que aquelas obtidas nos frascos agitados. O motivo para tal pode ser atribuído ao tipo de agitação utilizada, o que se observou é que na agitação magnética, a enzima aderiu as paredes do reator encamisado, o que dificultou o contato desta com o óleo de soja.

A partir da avaliação destas duas formas de agitação, escolheu-se o sistema de frascos agitados para dar continuidade ao projeto e para a parte final desse foi realizado, com um delineamento completo 23 + 6 pontos axiais + 3 pontos centrais para hidrólise de óleo de soja para avaliar as variáveis independentes concentração de enzima (lipase), concentração de água e agitação apresentados abaixo.

Tabela 2. Faixa de valores utilizada para as variáveis independentes no delineamento experimental para hidrólise de óleo de soja com LS

Nível	-1,68	-1	0	+1	+1,68
LS (U/g óleo)	40	52,5	70	87,5	100
Água (%m/m)	5	7	10	13	15
Agitação (rpm)	50	90	150	210	250

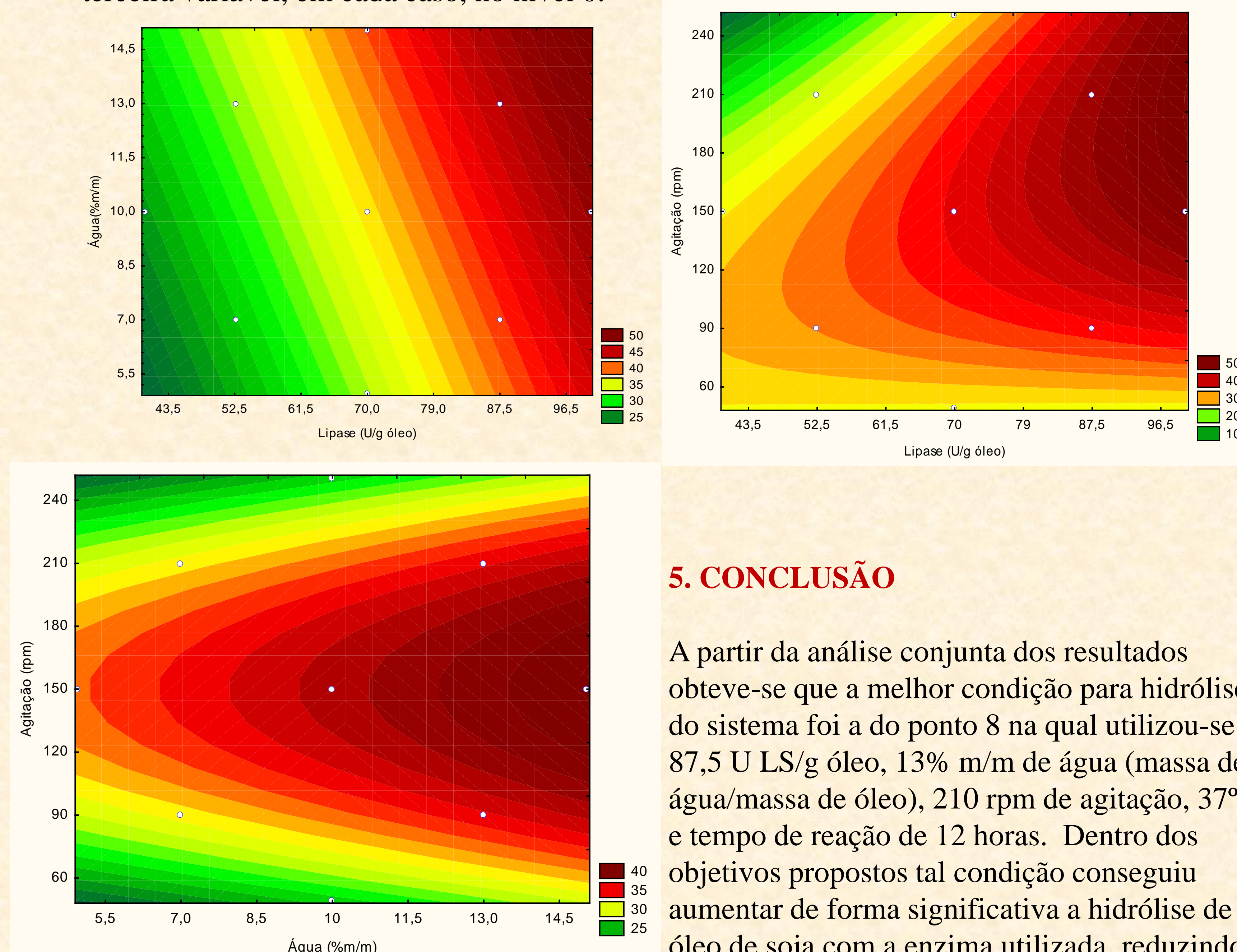
### 4.3. Teste de hidrólise com frascos agitados

Os resultados obtidos neste delineamento foram superiores aos obtidos nas etapas anteriores com redução bastante significativa da quantidade da enzima, o que demonstra que uma agitação conveniente proporcionou um ganho considerável de eficiência do sistema reacional.

O valor médio de hidrólise aumentou de 28 para 36% e o valor de R2 de 0,55 para 0,84, quando comparados os resultados obtidos no primeiro ano do projeto de iniciação científica, demonstrando que os dados se ajustaram melhor do que no delineamento realizado no ano passado.

A partir do modelo obtido foram construídas as curvas de contorno que representam o processo avaliado. Essas curvas estão na figura 1.

Figura 1- Superfícies de contorno para taxa de hidrólise de óleo de soja por LS (a) em função de LS e água (b) em função de LS e agitação (c) em função de água e agitação, com a terceira variável, em cada caso, no nível 0.



## 5. CONCLUSÃO

A partir da análise conjunta dos resultados obteve-se que a melhor condição para hidrólise do sistema foi a do ponto 8 na qual utilizou-se 87,5 U LS/g óleo, 13% m/m de água (massa de água/massa de óleo), 210 rpm de agitação, 37°C e tempo de reação de 12 horas. Dentro dos objetivos propostos tal condição conseguiu aumentar de forma significativa a hidrólise de óleo de soja com a enzima utilizada, reduzindo a concentração da mesma e mantendo-se o nível de água em concentrações mais baixas que o inicial.