

PRODUÇÃO DE ESTERES ETÍLICOS PELA ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA SOB IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA DOS ÁCIDOS GRAXOS OBTIDOS POR HIDRÓLISE DE ÓLEO DE BABAÇU

Italo Rafael De Aguiar Falcão¹
José Erick Da Silva Souza²
Brunna Lima Porfírio De Sousa³
Claudio Henrique Victor Porto⁴
José Cleiton Sousa Dos Santos⁵

RESUMO

O biodiesel é um combustível limpo, biodegradável, não tóxico e baixo poluente, além de possuir uma combustão eficiente devido ao seu maior teor de oxigênio. No Brasil, as principais matérias-primas para produção de biodiesel são óleos comestíveis, o que é um problema, por gerar uma competição entre o setor energético e o alimentício, acarretando um aumento no preço desses óleos para o consumo da população. O óleo de babaçu não é amplamente utilizado em alimentos; além disso, tem como principal produtor a região nordeste do país. Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo otimizar a produção de ésteres etílicos (biodiesel) utilizando ácidos graxos livres obtidos a partir do óleo de babaçu, tendo como biocatalisador a lipase de *Rhizomucor miehei* sob irradiação ultrassom. Fez-se uso do planejamento experimental Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), tendo como variáveis o tempo, a temperatura, a razão molar (ácido: álcool) e a quantidade de biocatalisador. Após realizada todos os ensaios, foi possível plotar o diagrama de Pareto e os gráficos de superfícies de resposta a fim de analisar o efeito de cada variável no valor de conversão. O ponto ótimo da reação estudada foi com 30 °C, 2 horas, com uma razão molar de 1:15 e 15% de biocatalisador, resultando uma conversão de 90,49 ± 0,04.

Palavras-chave: Biodiesel Óleo de babaçu Esterificação Lipase de *Rhizomucor miehei* Irradiação Ultrassônica .

UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, italorad7@gmail.com¹

UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, erick@aluno.unilab.edu.br²

UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, brunna@aluno.unilab.edu.br³

UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, claudiohenriquevictorporto@gmail.com⁴

UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Docente, jcs@unilab.edu.br⁵

INTRODUÇÃO

O biodiesel é uma energia promissora para compor uma matriz energética heterogênea, reduzindo assim a dependência do petróleo. É derivado de triglicerídeos ou ácidos graxos livres, que podem ser encontrados em óleos de origem animal, vegetal e residual, assim como gorduras de animais, ou seja, uma fonte ampla e renovável. Além disso, o biodiesel é um combustível limpo, biodegradável, não tóxico e baixo poluente, além de possuir uma combustão eficiente devido ao seu maior teor de oxigênio (NISAR et al., 2017; PATIL, 2009).

A rota mais utilizada na indústria para produção de biodiesel é a química, contudo, catalisadores químicos podem gerar algumas reações indesejáveis, produzindo assim resíduos ao meio ambiente (SOUZA et al, 2017). Para solucionar tal problema, vem crescendo o número de pesquisas científicas que investigam a produção de biodiesel por meio da rota enzimática, pois além de operar sob condições brandas de temperatura e pressão (HOU, 2002), possuir especificidade por um grande número de substratos (KOELLER; WONG, 2001), e tornam o processo de produção de biodiesel mais simples, por dispensar o processo de purificação (REMONATTO, 2017), a catálise enzimática reduz o impacto ambiental pela minimização de resíduos gerados durante a reação (MACEDO; MACEDO, 2004).

A reação de esterificação pode ser feita tanto em agitação mecânica, quanto pela técnica de irradiação ultrassônica, a última vem se destacando por ser econômica, “verde” e altamente eficiente (WANG, 2018). Os ciclos de compressão e rarefação das ondas sonoras geram um fenômeno denominado de cavitação, nele o colapso de bolha é formado e ampliado, quando este processo ocorre próximo à fase limite de dois líquidos imiscíveis, produz uma agitação muito eficiente, favorecendo assim a transferência de massa. Além disso, pressão e temperatura podem alcançar valor em torno de 1000 atm e 5000k, respectivamente, acelerando assim a reação (BANSODE; RATHOD, 2014).

Posto isto, o principal objetivo desta comunicação é otimizar, quanto a temperatura, tempo, razão molar e conteúdo de biocatalisador, a produção dos ésteres etílicos (biodiesel) dos ácidos graxos livres do óleo de babaçu sob irradiação ultrassônica.

METODOLOGIA

Planejamento experimental

Com o intuito de otimizar o processo, bem como identificar os efeitos de um ou mais parâmetros na reação, foi feito o planejamento experimental; o tipo de planejamento escolhido foi Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR). Com base na literatura, utilizou-se quatro variáveis independentes, razão molar (ácido graxo/álcool), massa de catalisador, tempo e temperatura (MANAN *et al.*, 2018; DA RÓS *et al.*, 2014; MOREIRA, 2019; SANTOS, 2009).

Tabela 1 - Valores numéricos e codificados das variáveis adotadas no planejamento experimental para a reação de esterificação do óleo de babaçu.

Códigos Variáveis		Níveis		
		-1	0	1
X1	Temperatura (°C)	30	40	50

X2	Tempo (horas)	2	3	4
X3	Razão Molar Ácido graxo/Álcool (m/v)	1:1	1:8	1:15
X4	Conteúdo de Biocatalisador (%m/m)	5	10	15

Fonte: Elaborado pelo autor.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Ao todo foram realizados 26 ensaios experimentais, 24 ensaios nos pontos fatoriais, 2 com repetições no ponto central, o maior valor de conversão de ésteres etílicos obtido dentro dos ensaios realizados foi de $90,49 \pm 0,04$, no ensaio número 4, com temperatura de $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, tempo de 2 horas, com uma razão molar de 1:15 e 15% de biocatalisador.

Tabela 3 - Planejamento experimental fatorial completo 2^4 para a reação de esterificação do óleo de babaçu.

Ensaio	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	Tempo (horas)	Razão Molar (ácido/álcool)	Conteúdo de Biocatalisador (%m/m)	Conversão (%)
1	30	2	1:1	0,05	$81,45 \pm 0,03$
2	30	2	1:1	0,15	$84,68 \pm 0,09$
3	30	2	1:15	0,05	$80,7 \pm 0,06$
4	30	2	1:15	0,15	$90,49 \pm 0,04$
5	30	4	1:1	0,05	$43,6 \pm 0,16$
6	30	4	1:1	0,15	$34,15 \pm 0,02$
7	30	4	1:15	0,05	$71,49 \pm 0,03$
8	30	4	1:15	0,15	$83,14 \pm 0,04$
9	50	2	1:1	0,05	$27,09 \pm 0,38$
10	50	2	1:1	0,15	$64,5 \pm 0,20$
11	50	2	1:15	0,05	$69,3 \pm 0,01$
12	50	2	1:15	0,15	$63,49 \pm 0,02$
13	50	4	1:1	0,05	$44,4 \pm 0,06$
14	50	4	1:1	0,15	$81,43 \pm 0,12$
15	50	4	1:15	0,05	$35,07 \pm 0,2$
16	50	4	1:15	0,15	$35,91 \pm 0,04$
17	30	3	1:8	0,10	$77,72 \pm 0,04$
18	50	3	1:8	0,10	$17,02 \pm 0,01$
19	40	2	1:8	0,10	$58,36 \pm 0,07$
20	40	4	1:8	0,10	$66,02 \pm 0,07$
21	40	3	1:1	0,10	$46,91 \pm 0,45$
22	40	3	1:15	0,10	$53,92 \pm 0,06$
23	40	3	1:8	0,05	$38,73 \pm 0,01$
24	40	3	1:8	0,15	$55,68 \pm 0,23$
25 (C)	40	3	1:8	0,10	$47,6 \pm 0,01$
26 (C)	40	3	1:8	0,10	$50,5 \pm 0,06$

Fonte: Elaborado pelo Autor.

Com uma breve análise da tabela, faz-se possível notar que os valores de conversão de ésteres etílicos reduzem consideravelmente com o aumento da temperatura e tempo da reação. A $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ a atividade residual da RML sofre uma queda para 70, 50 e 40% em um tempo de 2, 3 e 4 horas, respectivamente (NOEL, 2003), os valores relativamente baixos obtidos nas reações realizadas em 40 e $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ podem ser justificados pela desnaturação da lipase nessa faixa de temperatura. Outro fator que pode ter ocasionado a queda na conversão é o fato da enzima utilizada ser livre, a RML comercial livre apresenta uma queda de 20 e 25%, nas temperaturas de 40 e $50\text{ }^{\circ}\text{C}$, respectivamente, na taxa de conversão quando comparada com a mesma enzima imobilizada (MANAN, 2018).

Como pode ser visto na Tabela 3, o ensaio com maior índice de conversão ocorreu após 2 horas do início da reação, obtendo $90,49 \pm 0,04\%$ de conversão. Moreira (2019) sintetizou biodiesel de ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de babaçu por esterificação, utilizando agitação mecânica, alcançando uma conversão de $92,37 \pm 0,05\%$ após 4 horas de reação. Com isso comprova-se os efeitos positivos na aceleração de reações enzimáticas da técnica do ultrassom, que a literatura reporta (BANSODE; RATHOD, 2014).

Tais efeitos positivos são justificados pois a irradiação ultrassônica gera condições supercríticas de pressão e temperatura, além de facilitar a transferência de massa e dissociação das moléculas de água e oxigênio dissolvido, através de um fenômeno denominado cavitação, originando radicais livres altamente reativos (-OH e -OOH) (PANG; ABDULLAH; BHATIA, 2011).

O gráfico de Pareto foi utilizado para avaliação dos efeitos lineares (L) das variáveis independentes (temperatura, tempo de reação e razão molar) na variável dependente (conversão); além disso, demonstra também se a interação entre as variáveis independentes tem um resultado significativo no resultado. Os valores que sejam considerados para a modelagem matemática são os que se encontram à direita de $p = 0,05$ (YU; LOW; ZHOU, 2018).

Figura 1 - Diagrama de Pareto.



Fonte: Elaborado pelo Autor.

Observando o gráfico de Pareto para os parâmetros lineares, temos que a temperatura teve influência de cerca de -2,79, o tempo de -1,66, já a razão molar foi de 1,05, enquanto o conteúdo de biocatalisador 1,00. Os valores positivos indicam que uma alteração do nível da variável de -1 para 1 resulta no aumento da variável dependente (conversão), enquanto os valores negativos apontam quem com o aumento da variável dependente a queda na taxa de conversão, é o caso da temperatura e do tempo. Para estudar os efeitos dos seis parâmetros, bem como a sua interação, na reação de esterificação, criou-se gráficos de superfícies de respostas, apresentados na Figura 2.

Figura 2 - Superfícies de respostas representando (A) Temperatura *versus* Razão Molar (ácido graxo/álcool); (B) Temperatura *versus* Conteúdo de Biocatalisador; (C) Tempo *versus* Conteúdo de Biocatalisador; (D) Razão Molar (ácido graxo/álcool) *versus* Conteúdo de Biocatalisador; (E) Temperatura *versus* Tempo e (F) Tempo *versus* razão Molar (ácido graxo/álcool). Fonte: Elaborado pelo Autor.



Os gráficos de superfície de resposta mostram que a reação estudada é favorecida em temperaturas menores e por um tempo em torno de 2 horas. Um formato curvo do gráfico indica que foi obtido resultados no planejamento experimental coerente entre as variáveis independentes e o resultado. O gráfico D apresentou maior curvatura, apontando que quanto maior a razão molar, maior os valores de conversão alcançados. A atividade catalítica da enzima pode ser inibida pelo ácido, em altas concentrações. Um elevado valor da razão molar (ácido/álcool) pode ser utilizada para equilibrar a ação inibidora do ácido na atividade enzimática (BADGUJAR; BHANAGE, 2015).

CONCLUSÕES

A produção de biodiesel por rota enzimática mostra-se uma ótima alternativa, quando comparada com a rota química utilizada tradicionalmente nas indústrias, isso porque causa menos danos ao meio ambiente, além de diminuir as etapas do processo, por dispensar a lavagem. O único ponto negativo é o preço das enzimas, que por mais que venha sofrendo uma queda nas últimas décadas, ainda se encontra em uma faixa de preço elevada, quando comparada com o dos catalisadores químicos. Porém, este problema pode ser contornado com a imobilização e reutilização das enzimas.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao PIBIC-UNILAB pela concessão da bolsa que permitiu a manutenção das atividades que resultaram neste trabalho.

REFERÊNCIAS

- BADGUJAR, K.C.; BHANAGE, B.M. The combine use of ultrasound and lipase immobilized on co-polymer matrix for efficient biocatalytic application studies. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 122, p.255-264, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.09.012>.
- BANSODE, S.R.; RATHOD, V.K. Ultrasound assisted lipase catalysed synthesis of isoamyl butyrate. **Process Biochemistry**, v. 49, n. 8, p.1297-1303, ago. 2014. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.procbio.2014.04.018>.
- COSTA, Cristiane da Luz. FRANÇA, Erika Thais de Rezende. SANTOS, Débora Silva. COSTA, Maria Célia Pires. BARBOSA, Maria do Carmo Lacerda. NASCIMENTO, Maria 54 do Desterro Soares Brandão. **Caracterização físico-química de óleos fixos artesanais do coco babaçu (*Orbignya phalerata*) de regiões ecológicas do estado do Maranhão, Brasil**. Pesquisa em Foco, São Luís, vol. 20, n. 1, p. 27-38. 2015. ISSN: 2176-0136
- DA RÓS, Patrícia Caroline MolgeVro et al. Biodiesel from babassu oil: Characterization of the product obtained by enzymatic route accelerated by microwave irradiation. **Industrial Crops and Products**, v. 52, p. 313-320, 2014.
- HOU, Ching T. Industrial uses of lipase. **Lipid biotechnology**, v. 18, p. 432-442, 2002.
- JOSHI, Saurabh M.; GOGATE, Parag R.; KUMAR, S. Suresh. Intensification of esterification of karanja oil for production of biodiesel using ultrasound assisted approach with optimization using response surface methodology. **Chemical Engineering and Processing-Process Intensification**, v. 124, p. 186-198, 2018.
- KOELLER, Kathryn M.; WONG, Chi-Huey. Enzymes for chemical synthesis. **Nature**, v. 409, n. 6817, p. 232, 2001.

MACEDO, Gabriela A.; MACEDO, Juliana A. Produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais. **Biocologia Ciência e Desenvolvimento**, v. 32, n. 1, p. 38-46, 2004.

MACHADO, Getúlio Costa. CHAVES, José Benício Paes. ANTONIASSI, Rosemar. **Composição em ácidos graxos e caracterização física e química de óleos hidrogenados de coco babaçu**. *Ceres*, p. 463-468, 2006.

MANAN, Fatin Myra Abd et al. Enzymatic esterification of eugenol and benzoic acid by a novel chitosan-chitin nanowhiskers supported *Rhizomucor miehei* lipase: Process optimization and kinetic assessments. **Enzyme and microbial technology**, v. 108, p. 42-52, 2018.

MOREIRA, Francisca Belkise de Freitas. **Síntese e caracterização de óleo básico biolubrificante a partir do biodiesel de babaçu (*Atallea speciosa*)**. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Energias Renováveis, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará (IFCE), Maracanaú, 2017.

MOREIRA, S. K. **Síntese de biodiesel pela esterificação enzimática dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de babaçu**. 2019. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Energias, Instituto de Engenharia e Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Acarape-CE, 2019.

NOEL, Marilyne; COMBES, Didier. Effects of temperature and pressure on *Rhizomucor miehei* lipase stability. **Journal of biotechnology**, v. 102, n. 1, p. 23-32, 2003.

PANG, Y.L; ABDULLAH, A.Z; BHATIA, S. Review on sonochemical methods in the presence of catalysts and chemical additives for treatment of organic pollutants in wastewater. **Desalination**, v. 277, n. 1-3, p.1-14, ago. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.desal.2011.04.049>.

PATIL, Prafulla D.; DENG, Shuguang. Optimization of biodiesel production from edible and non-edible vegetable oils. *Fuel*, v. 88, n. 7, p. 1302-1306, 2009.

REMONATTO, Daniela. **Síntese enzimática de ésteres de ácidos graxos a partir de diferentes matérias graxas utilizando as lipases eversa transform e eversa transform 2.0**. Tese de doutorado apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC. Florianópolis, 2017.

SAHAR, SADAF S, IQBAL J, ULLAH I, BHATTI HN, NOUREN S, HABIB-URREHMAN, NISAR J, IQBAL M. Biodiesel production from waste cooking oil: An efficient technique to convert waste into biodiesel. **Sustainable Cities and Society**, <https://doi.org/10.1016/j.scs.2018.05.037>

SANTOS, Francisco Francielle Pinheiro dos. **Produção de biodiesel assistida por ultrassom**. Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará. 2009.

SOUZA, M.C.M. de et al. Production of flavor esters catalyzed by lipase B from *Candida antarctica* immobilized on magnetic nanoparticles. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, [s.l.], v. 34, n. 3, p.681-690, jul. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150575>.

STAVARACHE, Carmen et al. Fatty acids methyl esters from vegetable oil by means of ultrasonic energy.

Ultrasonics sonochemistry, v. 12, n. 5, p. 367-372, 2005.

WANG, D. et al. Ultrasound promotes enzymatic reactions by acting on different targets: Enzymes, substrates and enzymatic reaction systems. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 119, p.453-461, nov. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.07.133>.

YU, P.; LOW, M.Y.; ZHOU, W. Design of experiments and regression modelling in food flavour and sensory analysis: A review. **Trends in Food Science & Technology**, v. 71, p.202-215, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2017.11.013>