

## **AVALIAÇÃO DA IRRADIAÇÃO ULTRASSÔNICA PARA A OTIMIZAÇÃO DA ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE ÁCIDOS ETÍLICOS ORIUNDOS DE ÓLEO DE FRANGO RESIDUAL**

Thales Guimarães Rocha<sup>1</sup>  
José Cleiton Sousa Dos Santos<sup>2</sup>

### **RESUMO**

No presente trabalho, a esterificação enzimática dos ácidos graxos livres oriundos do óleo de frango residual foi analisada em função da combinação da lipase B de *Candida antactica* (CALB) e da lipase de *Rhizomucor miehei* (RML) nas formas solúvel e imobilizada, com e sem a utilização de peneira molecular e irradiação ultrassônica. Com as condições experimentais de 30 °C, razão molar (ácido graxo livre/etanol) de 1:5, 3 horas de reação e 15% de biocatalisador em função da massa de substrato, os valores observados de conversão variaram entre 89,95±0,03% com a combinação de lipases livres e 61,41±0,13% com as lipases imobilizadas. Além disso, pode-se concluir que, para o estudo apresentado, as lipases solúveis não apresentaram comportamento otimizado com o uso de irradiação ultrassônica ou peneira molecular.

**Palavras-chave:** ESTERIFICAÇÃO LIPASES ULTRASSOM PENEIRA MOLECULAR .

---

Unilab, IEDS, Discente, thales@aluno.unilab.edu.br<sup>1</sup>  
Unilab, IEDS, Docente, jsCleiton@gmail.com<sup>2</sup>



## INTRODUÇÃO

O atual dinamismo que caracteriza as relações econômicas globais demanda cada vez mais o desenvolvimento de metodologias que visem a autonomia energética dos países (BÓRAWSKI *et al.*, 2019). Nesse contexto, o biodiesel pode ser utilizado como complemento ecológico aos combustíveis fósseis por se caracterizar como uma fonte energética oriunda de óleos e gorduras vegetais e animais de baixo valor agregado, configurando-se como combustível renovável e biodegradável (KIRUBAKARAN; ARUL MOZHI SELVAN, 2018; CAVALCANTE *et al.*, 2021).

Diferentemente dos processos químicos industriais tradicionais para a produção de biodiesel, a catálise mediada por lipases de reações químicas/bioquímicas tem como vantagens a utilização de condições brandas de reação, o que minimiza o consumo de energia, e a diminuição da síntese de produtos indesejáveis, mitigando a necessidade de purificação do produto final (BANSODE; RATHOD, 2017; SÁ *et al.*, 2017; CAVALCANTE *et al.*, 2021). Além disso, metodologias podem ser empregadas visando o aumento do rendimento reacional e da atividade enzimática, a fim de tornar o processo de síntese de biodiesel por rota enzimática mais rentável em escala industrial. Como exemplo, a utilização da irradiação ultrassônica pode aumentar a conversão do produto por favorecer a transferência de massa das reações, o que é possível graças as altas frequências das ondas sonoras (>16 kHz) que promovem o colapso de bolhas próximas ao meio reacional, sob condições extremas de temperatura e pressão (SÁ *et al.*, 2017). A utilização de peneiras moleculares visando a adsorção da água em excesso em reações de esterificação enzimática também apresenta-se como alternativa viável para potencializar a síntese de biodiesel, já que a desnaturação enzimática é evitada e o equilíbrio reacional é atingido (ALVES *et al.*, 2015).

Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo principal analisar a esterificação dos ácidos graxos livres do óleo de frango residual catalisada pela combinação da lipase B de *Candida antactica* (CALB) e da lipase de *Rhizomucor miehei* (RML), nas formas solúvel e imobilizada. Além disso, analisou-se os de peneira molecular e irradiação ultrassônica na produção enzimática de biodiesel.

## METODOLOGIA

### Materiais

As lipases comerciais (E.C. 3.1.1.3) Lipozyme® RM e Lipozyme® 435 nas formas solúvel e imobilizada foram doadas pela Novozymes A/S (Madri, Espanha). O óleo de frango residual foi obtido em um mercado local (Redenção, Brasil). Zeólita do tipo 3A (4-8 mesh) foi obtida junto a Sigma Aldrich (San Luis, EUA). O banho ultrassônico utilizado (modelo USC 2800A; 37 kHz, 300 W) foi obtido da Unique Inc (São Paulo, Brasil). Para a criação dos gráficos, foi utilizado o OriginPro® 2017 (OriginLab, Northampton, EUA). Os reagentes utilizados foram de grau analítico.

### Métodos



A produção dos ácidos graxos livres de óleo de frango residual foi realizada via hidrólises básica e ácida, conforme reportado anteriormente na literatura (LIMA *et al.*, 2012). A produção de biodiesel enzimático foi performada com uma razão molar 1:5 (ácidos graxos livres/etanol), 15% de biocatalisador (67% de CALB e 33% de RML) em relação à massa dos ácidos graxos livres e incubadas durante 3 horas à 30 °C (150 rpm ou 37 kHz e 300W). Para a obtenção dos valores de conversão em ésteres, foram feitas titulações em duplicata de 0,2 g da amostra reacional segundo a literatura (CAVALCANTI *et al.*, 2018). Dessa forma, os valores dos índices de acidez da amostra inicial e final foram calculados a fim de se determinar o rendimento reacional (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como pode ser observado na Figura 1, o maior valor de conversão em ésteres foi de  $89,95 \pm 0,03\%$  com o biocatalisador na forma solúvel; diferentemente do biocatalisador na forma imobilizada, que apresentou uma conversão menor ( $61,41 \pm 0,13\%$ ). A imobilização enzimática, mesmo benéfica para proteção da enzima ao meio reacional, pode dificultar o acesso do substrato ao sítio ativo, dependendo das características hidrofílicas ou hidrofóbicas do suporte utilizado na imobilização (MARTINS *et al.*, 2014). Além disso, a irradiação ultrassônica pode ter ocasionado mudanças conformacionais na estrutura das lipases quando na sua forma solúvel, uma vez que foi observada uma diminuição na conversão em ésteres para as reações performadas na presença de irradiação ultrassônica quando comparada as reações performadas sob agitação mecânica. Entretanto, tal efeito deletério da irradiação ultrassônica não foi observado para as lipases imobilizadas; pelo contrário, as reações performadas sob irradiação ultrassônica e com lipases imobilizadas tiveram um aumento na conversão em ésteres, como pode ser observado na Figura 1. A imobilização enzimática confere maior rigidez e/ou estabilidade aos biocatalisadores, que se tornam menos susceptíveis às mudanças operacionais e às condições reacionais. Além disso, comportamentos diferentes quanto à utilização da irradiação ultrassônica no rendimento experimental foram observados. Diferente do que é relatado na literatura, a utilização do ultrassom não contribuiu para um aumento global no rendimento em ésteres etílicos, sendo o valor de  $85,23 \pm 0,01\%$  a maior conversão obtida.

Figura 1 - Conversão em ésteres sob condições experimentais de 30 °C, razão molar (ácido graxo livre/etanol) de 1:5, 3 horas de reação e 15% de biocatalisador em massa de substrato. (A) Estudo da conversão em relação ao tipo de coquetel enzimático e ao reator reacional. (B) Relação entre a conversão em ésteres e a quantidade de peneira molecular utilizada no meio reacional para as condições reacionais Solúvel/Agitação Mecânica.



\* Condições reacionais (Tipo de biocatalisador/ Reator reacional): a = Solúvel/Agitação Mecânica, b = Solúvel/Irradiação Ultrassônica, c = Imobilizada/ Agitação Mecânica, d = Imobilizada/ Irradiação Ultrassônica.



Afim de otimizar a conversão em ésteres, utilizou-se a peneira molecular na produção de biodiesel. A peneira molecular do tipo A3 apresenta característica hidrofílica e permite alcançar o equilíbrio reacional removendo moléculas de água produzidas na reação de esterificação, proporcionando maior síntese de produtos além de purificar o produto obtido (FALLAVENA *et al.*, 2014). Porém, como pode ser observado na Figura 2, a adição gradual da peneira molecular, não apresentou variação significativa na conversão em ésteres; de fato, a conversão diminuiu cerca de 13% com o uso de 20% de peneira molecular em relação a massa de substrato. Dessa forma, entende-se que a adição da peneira molecular pode ter ocasionado efeitos difusionais; além disso, o aumento da concentração de peneira molecular no volume reacional pode ter adsorvido não só a água resultante da esterificação, mas também a camada de água presente no microaquoso necessário à manutenção da atividade catalítica.

## CONCLUSÕES

Dado os resultados, é possível constatar que, especificamente para este estudo, observa-se a viabilidade na utilização de lipases livres como biocatalisadores em condições brandas de reação para a produção de biodiesel; além disso, observa-se o efeito deletério na atividade enzimática ocasionado pelo uso de irradiação ultrassônica e peneira molecular.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a agência de fomento PIBIC/CNPq pelo projeto PVD1130 edital PROPPG 04/2020.

## REFERÊNCIAS

- ALVES, J. S. *et al.* Use of Lecitase-Ultra immobilized on styrene-divinylbenzene beads as catalyst of esterification reactions: Effects of ultrasounds. *Catal. Today*, v. 255, p. 27-32, 2015.
- BANSODE, S. R.; RATHOD, V. K. An investigation of lipase catalysed sonochemical synthesis: A review. *Ultrason. Sonochem.*, v. 38, p. 503-529, 2017.
- BÓRAWSKI, P. *et al.* Development of renewable energy sources market and biofuels in The European Union. *J. Clean. Prod.*, v. 228, p. 467-484, 2019.
- CAVALCANTE, F. T. T. *et al.* Designing of Nanomaterials-Based Enzymatic Biosensors: Synthesis, Properties, and Applications. *Electrochem.*, v. 2, p. 149-184, 2021.
- CAVALCANTE, F. T. T. *et al.* Opportunities for improving biodiesel production via lipase catalysis. *Fuel*, v. 288, p. 119577, 2021.
- CAVALCANTI, E. D. C. *et al.* Improved production of biolubricants from soybean oil and different polyols via esterification reaction catalyzed by immobilized lipase from *Candida rugosa*. *Fuel*, v. 215, p. 705-713, 2018.
- DOS SANTOS, J. C. S. *et al.* Immobilization of CALB on activated chitosan: Application to enzymatic synthesis in supercritical and near-critical carbon dioxide. *Appl. Biotechnol. Rep.*, v. 14, p. 16-17 2017.
- FALLAVENA, L. P. *et al.* Ultrasound technology and molecular sieves improve the thermodynamically controlled esterification of butyric acid mediated by immobilized lipase from *Rhizomucor miehei*. *RSC Adv.*, v. 4, p. 8675-8681, 2014.
- KIRUBAKARAN, M.; ARUL MOZHI SELVAN, V. A comprehensive review of low cost biodiesel production from waste chicken fat. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 82, p. 390-401, 2018.



LIMA, L. P. *et al.* Production of free fatty acids from waste oil by application of ultrasound. *Biomass Convers. Biorefin*, v. 2, p. 309-315, 2012.

MARTINS, A. B. *et al.* Comparison of the performance of commercial immobilized lipases in the synthesis of different flavor esters. *J. Mol. Catal. B Enzym*, v. 105, p. 18-25, 2014.

SÁ, A. G. A. *et al.* A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries. *Trends Food Sci. Technol*, v. 69, p. 95-105, 2017.

