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

Italo Rafael de Aguiar FalcÃo [1], José Erick da Silva Souza [2], Brunna Lima Porfírio de Sousa [3], Claudio Henrique Victor Porto [4], José Cleiton Sousa dos Santos [5]

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.

[1] UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, e-mail: italorad7@gmail.com
[2] UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, e-mail: erick@aluno.unilab.edu.br
[3] UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, e-mail: brunna@aluno.unilab.edu.br
[4] UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Discente, e-mail: claudiohenriquevictorporto@gmail.com
[5] UNILAB - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Campus dos Palmares, Acarape (CE), Docente, e-mail: jcs@unilab.edu.br

INTRODUÇÃO

O biodiesel é uma energia promissora para compor uma matriz energética heterogêna, 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 cientificas 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 (ºC)

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 ± 0,04, no ensaio número 4, com temperatura de 30 °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.

Ensaios	**Temperatura (ºC)**	**Tempo (horas)**	**Razão Molar (ácido/álcool)**	**Conteúdo de Biocatalisador (%m/m)**	**Conversão (%)**
1	30	2	1:1	0,05	81,45 ± 0,03
2	30	2	1:1	0,15	84,68 ± 0,09
3	30				

2

1:15

0,05

80,7 ± 0,06

4

30

2

1:15

0,15

90,49 ± 0,04

5

30

4

1:1

0,05

43,6 ± 0,16

6

30

4

1:1

0,15

34,15 ± 0,02

7

30

4

1:15

0,05

71,49 ± 0,03

8

30

4

1:15

0,15

83,14 ± 0,04

9

50

2

1:1

0,05

27,09 ± 0,38

10

50

2

1:1

0,15

64,5 ± 0,20

11

50

2

1:15

0,05

69,3 ± 0,01

12

50

2

1:15

0,15

63,49 ± 0,02

13

50

4

1:1

0,05

44,4 ± 0,06

14

50

4

1:1

0,15

81,43 ± 0,12

15

50

4

1:15

0,05

35,07 ± 0,2

16

50

4

1:15

0,15

35,91 ± 0,04

17

30

3

1:8

0,10

77,72 ± 0,04

18

50

3

1:8

0,10

17,02 ± 0,01

19

40

2

1:8

0,10

58,36 ± 0,07

20

40

4

1:8

0,10

66,02 ± 0,07

21

40

3

1:1

0,10

46,91 ± 0,45

22

40

3

1:15

0,10

53,92 ± 0,06

23

40

3

1:8

0,05

38,73 ± 0,01

24

40

3

1:8

0,15

55,68 ± 0,23

25 (C)

40

3

1:8

0,10

47,6 ± 0,01

26 (C)

40

3

1:8

0,10

50,5 ± 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 °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 °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 utiliza ser livre, a RML comercial livre apresenta uma queda de 20 e 25%, nas temperaturas de 40 e 50 °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 ± 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 ± 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, demostra 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 os catalisadores químicos. Porém, este problema pode ser contorna

docomaimobilizaçãoereutilizaçãodasenzimas.

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. **Biotecnologia 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