



Acta Scientiarum. Technology

ISSN: 1806-2563

eduem@uem.br

Universidade Estadual de Maringá
Brasil

dos Santos Silva, Grazielle; Yuri Inoue, Dayana; Dors, Gisanara; Furigo Junior, Agenor; Ferreira de Castro, Heizir

Desempenho de diferentes lipases imobilizadas na síntese de biodiesel de óleo de palma

Acta Scientiarum. Technology, vol. 33, núm. 2, 2011, pp. 197-203

Universidade Estadual de Maringá
Maringá, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=303226531011>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

redalyc.org

Sistema de Informação Científica

Rede de Revistas Científicas da América Latina, Caribe , Espanha e Portugal
Projeto acadêmico sem fins lucrativos desenvolvido no âmbito da iniciativa Acesso Aberto

Desempenho de diferentes lipases imobilizadas na síntese de biodiesel de óleo de palma

Grazielle dos Santos Silva¹, Dayana Yuri Inoue¹, Gisanara Dors², Agenor Furigo Junior² e Heizir Ferreira de Castro^{1*}

¹Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Cx. Postal 116, 12602-810, Lorena, São Paulo, Brasil.

²Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. *Autor para correspondência. E-mail: heizir@dequi.eel.usp.br

RESUMO. O presente trabalho teve como objetivo determinar as condições otimizadas da síntese enzimática de biodiesel, a partir do óleo de palma e etanol, empregando diferentes lipases imobilizadas (lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em SiO₂-PVA e lipase de *Candida antartica* imobilizada em resina acrílica - Novozym® 435) em meio isento de solvente. Uma matriz de planejamento fatorial foi utilizada para avaliar a influência da temperatura (42 – 58°C) e a razão molar entre etanol e óleo de palma (6:1 – 18:1) no rendimento de transesterificação alcançado para cada preparação de lipase. Os efeitos principais foram ajustados por análise de regressão múltipla a modelos lineares e o rendimento máximo foi obtido quando o sistema operacional foi operado a 42°C com substratos contendo etanol e óleo de palma na razão molar de 18:1. Os modelos matemáticos que representam o rendimento global da reação para cada lipase imobilizada foram considerados adequados para descrever os resultados experimentais.

Palavras-chave: lipase, imobilização, biodiesel, planejamento, óleo de palma.

ABSTRACT. Performance of different immobilized lipases in palm oil biodiesel synthesis. Optimized conditions for palm oil and ethanol enzymatic biodiesel synthesis were determined with different immobilized lipases SiO₂-PVA-immobilized lipase from *Pseudomonas fluorescens* and acrylic resin-immobilized lipase, Novozym® 435, from *Candida antartica*, in solvent-free medium. A full factorial design assessed the influence of temperature (42 – 58°C) and ethanol: palm oil (6:1 – 18:1) molar ratio on the transesterification yield. Main effects were adjusted by multiple regression analysis to linear models and the maximum transesterification yield was obtained at 42°C and 18:1 ethanol: palm oil molar ratio. Mathematical models featuring total yield for each immobilized lipase were suitable to describe the experimental results.

Keywords: lipase, immobilization, biodiesel, experimental design, palm oil.

Introdução

A produção de biodiesel constitui um desenvolvimento prioritário no Brasil, sendo que a elevação dos preços do óleo diesel e o interesse do Governo Federal em reduzir sua importação levaram o Ministério da Ciência e Tecnologia a lançar o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel (Probiobiodiesel). O programa tem como objetivo fomentar a produção e utilização do biodiesel no País, de modo a se atingir sua viabilidade técnica, sócio-ambiental e econômica (SUAREZ et al., 2009).

O biodiesel é um combustível renovável formado por monoésteres de ácidos graxos não tóxicos e biodegradáveis, sendo uma alternativa ao diesel do petróleo, com vantagens ambientais, econômicas e sociais (MARCHETTI et al., 2007). O

biodiesel reduz significativamente a emissão de gases, como partículas de carbono e monóxido de carbono (DU et al., 2008); possibilita a redução de importações de petróleo e diesel refinado, além de gerar trabalho, principalmente no setor primário, pelo cultivo de oleaginosas.

Dentre as matérias-primas com potencial para obtenção de biodiesel, destaca-se o óleo de palma, por ser o segundo óleo mais abundante no mundo e por ser a palma caracterizada pela produtividade superior entre todas as oleaginosas (KALAM; MASJUKI, 2002). Contudo, para utilização dos óleos vegetais em motores de combustão, é necessário efetuar modificações na molécula do triglicerídeo, pela sua elevada viscosidade (MARCHETTI et al., 2007).

A tecnologia estabelecida para a produção industrial de biodiesel é baseada na transformação

química (alcoólise) de óleos vegetais com metanol, usando catalisadores homogêneos (ácidos ou básicos), para promover a clivagem das moléculas de triglicerídeos e gerar uma mistura de ésteres de ácidos graxos (AKOH et al., 2007). Apesar do elevado rendimento obtido por esta via, o metanol constitui um produto também fóssil (obtido do petróleo) e o uso dos catalisadores homogêneos gera problemas ao meio ambiente e requer inúmeras etapas de recuperação e purificação do produto final (KNOTHE et al., 2006).

Assim, a substituição da catálise homogênea pela heterogênea surge como uma opção tecnológica interessante, pois atende à demanda por processos menos poluentes e mais seletivos, em função das inúmeras vantagens que os processos heterogêneos oferecem sobre os homogêneos clássicos, tais como pouca ou nenhuma corrosão; fácil separação; poucos problemas com rejeitos; fácil manuseio e possibilidade de reutilização (PINTO et al., 2005). Além disso, o uso de catalisador heterogêneo minimiza os problemas relativos às etapas finais de purificação do biodiesel, reduzindo a ocorrência das reações indesejáveis de saponificação e permite a simplificação e a redução dos custos dos processos pela diminuição do número de operações associadas. Várias pesquisas recentes relacionadas à alcoólise de triglicerídeos envolvem o uso de catalisadores heterogêneos, como por exemplo, zeólitas básicas, óxidos e carbonatos de metais alcalino-terrosos e enzimas, em particular lipases (PINTO et al., 2005).

Embora o processo enzimático ainda não esteja comercialmente desenvolvido, grande número de artigos tem mostrado que a catálise enzimática é promissora. Estes estudos consistem principalmente na otimização das condições de reação (temperatura, razão molar álcool/óleo, tempo de reação, entre outros) visando estabelecer as condições adequadas para aplicações industriais (MOREIRA et al., 2007). Além disso, a fonte de lipase, como o tipo de óleo vegetal e tamanho de cadeia do álcool são também parâmetros importantes que interferem no rendimento global do processo (SALIS et al., 2005).

Na rota enzimática pressupõe-se o uso de preparações de lipase immobilizadas ativas, estáveis e de baixo custo, sendo de grande interesse o desenvolvimento de novos sistemas immobilizados para aplicação na produção de biodiesel (DU et al., 2008). Em trabalhos anteriormente desenvolvidos selecionou-se a lipase de *Pseudomonas fluorescens* como um catalisador promissor para síntese de biodiesel, a partir do óleo de palma usando etanol como agente acilante (MOREIRA et al., 2007). Dando sequência a esta investigação, a influência das variáveis que afetam o rendimento desta síntese,

particularmente temperatura e razão molar (etanol:óleo), foram estudadas visando determinar as condições que maximizem a obtenção de biodiesel utilizando esta específica preparação de lipase (lipase de *Pseudomonas fluorescens* previamente imobilizada em suporte híbrido sílica-álcool polivinílico SiO₂-PVA). Os experimentos realizados adotaram a metodologia de planejamento estatístico que possibilita verificar a influência das variáveis e suas interações no rendimento de um determinado processo com grande economia de tempo, material e recursos (BOX et al., 1978).

Para efeito de comparação do desempenho alcançado pela lipase de *P. fluorescens* imobilizada, o mesmo delineamento experimental foi aplicado para reações de transesterificação do óleo de palma e etanol usando uma preparação de lipase imobilizada em resina acrílica macroporosa disponível comercialmente (Novozym®435). Esta lipase é descrita na literatura como o biocatalisador mais efetivo para síntese de biodiesel, a partir de diferentes óleos vegetais e agentes acilantes como metanol e etanol (SHIMADA et al., 2002; DU et al., 2004).

Desta forma, o presente trabalho teve como objetivo determinar as condições otimizadas da síntese enzimática de biodiesel, a partir do óleo de palma e etanol, empregando diferentes lipases immobilizadas (lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em SiO₂-PVA e lipase de *Candida antartica* imobilizada em resina acrílica - Novozym® 435) em meio isento de solvente.

Material e métodos

Materiais

Os experimentos foram realizados com preparações comerciais de lipases microbianas: *Pseudomonas fluorescens* (Lipase AK) adquirida na forma solúvel da Amano Enzyme Inc. (Nagoya, Japão) e posteriormente immobilizada em suporte híbrido sílica - álcool polivinílico (SiO₂-PVA) e lipase de *Candida antartica* comercializada pela Novozymes A/S (Bagsvaerd, Dinamarca) na forma immobilizada em suporte acrílico (Novozym®435). Como materiais de partida foram utilizados: etanol anidro (99,5%, Reagen) e amostra de óleo de palma refinado fornecida gentilmente pela Agropalma (Estado do Pará, Brasil) com a seguinte composição em ácidos graxos (% m m⁻¹): 0,1% lúrico, 1,2% mirístico, 46,8% palmítico, 3,8% esteárico, 37,6% oleico e 10,5% linoleico. Outros reagentes utilizados foram: solventes (acetona – Synth, etanol – Nuclear, hexano – Quimex), hidróxido de potássio (Reagen), álcool polivinílico (MM 72.000, Reagen), ácido

clorídrico (mínimo 36%, Isofar), polietilenoglicol (MM 1500, Synth), goma arábica em pó pura (Synth) e óleo de oliva comercial baixo teor de acidez (Carbonell).

Síntese do suporte e imobilização da lipase AK

O composto híbrido de polissiloxano - álcool polivinílico ($\text{SiO}_2\text{-PVA}$) foi sintetizado e ativado com epicloridrina, conforme metodologia descrita por Paula et al. (2008). A imobilização da lipase AK no suporte ativado consistiu do contato da enzima com o suporte (250 mg g^{-1} suporte) juntamente com solução aquosa de 5 mg mL^{-1} de polietilenoglicol 1500 MM (100 $\mu\text{L g}^{-1}$ suporte), por um período de 24h a 4°C. A lipase imobilizada foi recuperada por filtração a vácuo e o sistema imobilizado foi lavado com hexano. A atividade enzimática da lipase imobilizada foi determinada pelo método de hidrólise do azeite de oliva emulsificado empregando 100 mg de derivado imobilizado, conforme metodologia descrita por Soares et al. (1999).

Síntese de biodiesel e delineamento experimental

As reações de síntese de biodiesel foram realizadas em balões de vidro de 25 mL, hermeticamente fechados, utilizando-se placa de agitação magnética e controle de temperatura. Os meios reacionais continham misturas de etanol e óleo de palma (razão molar etanol: óleo de palma variando entre 6:1 a 18:1) e foram incubados com as preparações de lipase numa proporção mássica entre 4 a 20% (m m^{-1}) em relação à massa total de reagentes numa faixa de temperatura que variou entre 42 a 58°C (Tabela 1). Os experimentos foram efetuados de maneira randômica por um período máximo de 24h em agitação magnética de 200 rpm. Como variável resposta, foi considerada o rendimento de transesterificação (%). A análise estatística dos resultados foi realizada utilizando-se os programas Statistica versão 5 (StatSoft Inc., USA) e Design-Expert 6.0 (Stat-Ease Corporation, USA). Este último programa foi também empregado para determinação dos valores máximos de rendimentos possíveis de serem obtidos dentro da faixa de valores estudados. Neste caso, o programa executa um algoritmo de otimização numérica baseado na função de desejabilidade, como descrito por Myers e Montgomery (1995).

Tabela 1. Matriz proposta: níveis reais e codificados para as variáveis temperatura e razão molar, segundo planejamento factorial completo 2^2 .

Variáveis	Variáveis	Níveis	
Reais	Codificadas	-1	0
Temperatura (°C)	X_1	42	50
Razão molar (etanol:óleo)	X_2	6	12

Determinação dos ésteres de etila

Os ésteres de etila formados foram quantificados por cromatografia gasosa (Cromatógrafo a gás Varian 3.800), com detector de ionização de chama e uma coluna de aço inoxidável (5% DEGS on Chromosorb WHP, 80/100 mesh), adotando metodologia previamente estabelecida por Urioste et al. (2008). Nitrogênio foi usado como gás de arraste num fluxo de 30 mL min^{-1} . As temperaturas do detector e injetor foram de 250 e 230°C, respectivamente. A temperatura da coluna inicialmente foi mantida a 120°C por 15 min. e, em seguida, aquecida numa taxa de 25°C min^{-1} , até a temperatura de 170°C, permanecendo nessas condições por 26 min. O rendimento de transesterificação (%) foi definido como o valor que expressa a massa total obtida de ésteres de etila em relação à massa teórica esperada de ésteres de etila (URIOSTE et al., 2008).

Resultados e discussão

Por meio da ferramenta do planejamento experimental, buscou-se determinar os efeitos das variáveis: temperatura (X_1) e razão molar entre álcool e óleo (X_2) na síntese de biodiesel, a partir do óleo de palma e etanol como agente acilante, usando duas preparações de lipase imobilizada. Os resultados obtidos em termos de formação de monoésteres de etila para diferentes tempos de incubação são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Concentração dos monoésteres formados nas reações de transesterificação do óleo de palma com etanol usando diferentes fontes de lipase.

Exp.	Tempo (h)	Concentração de Ésteres Etílicos % (m m^{-1})					
		C12	C14	C16	C18	C18:1	C18:2
Novozym®435							
1	6	0,45	0,93	17,02	8,57	38,09	6,09
	12	0,40	0,83	18,32	9,70	43,12	6,54
2	6	0,77	0,78	14,85	6,70	29,79	5,45
	12	0,69	0,93	14,44	6,52	28,98	5,03
3	6	0,41	0,65	13,96	6,05	26,88	3,55
	12	0,13	0,37	10,33	5,74	25,50	3,79
4	6	0,30	0,71	12,37	5,86	26,07	3,62
	12	0,34	0,69	11,57	6,54	29,05	4,27
5	6	0,54	0,88	12,50	5,90	26,23	3,78
	12	0,38	0,85	14,07	7,70	4,97	5,05
6	6	0,49	0,97	14,66	6,93	30,82	4,92
	12	0,36	0,86	14,96	8,16	36,28	5,35
7	6	0,42	0,74	12,69	5,74	25,52	3,59
	12	0,48	0,77	14,31	7,88	35,02	5,16
Lipase AK ($\text{SiO}_2\text{-PVA}$)							
1	6	0,06	0,00	4,11	0,62	2,18	0,00
	24	0,19	0,87	23,54	5,33	18,78	4,60
2	6	0,00	0,00	3,28	0,39	1,36	0,30
	24	0,05	0,74	13,75	2,03	7,17	1,57
3	6	0,11	0,44	9,16	1,16	4,08	0,13
	24	0,22	0,88	21,78	5,06	17,95	3,38
4	6	0,13	0,01	13,53	1,84	6,48	1,27
	24	0,09	0,86	19,58	3,96	13,96	2,56
5	6	0,00	0,12	5,29	0,50	2,70	0,27
	24	0,10	0,70	20,39	2,12	11,47	0,66
6	6	0,00	0,10	5,24	0,45	2,41	0,21
	24	0,11	0,65	17,40	1,84	9,98	0,56
7	6	0,04	0,22	6,68	0,56	3,05	0,23
	24	0,09	0,53	19,83	2,15	11,62	0,60

A Tabela 2 indica que ambas as lipases foram capazes de formar os monoésteres de etila em todas as condições ensaiadas. As velocidades das reações catalisadas pela Novozym®435 foram quatro vezes superiores às observadas pela lipase AK. Enquanto o equilíbrio das reações catalisadas com a lipase AK foi alcançado em 24h, para as reações catalisadas pela Novozym®435 o equilíbrio foi alcançado em apenas 6 h de reação. Desta forma, para efeito de comparação de desempenho foram adotados os tempos reacionais de 6 e 24h, para as lipases Novozym®435 e AK, respectivamente (Tabela 3).

Verifica-se ainda que os perfis de formação dos monoésteres de etila foram similares nos dois experimentos efetuados, com formação acentuada dos ésteres de palmitato e oleato de etila.

Tabela 3. Matriz do planejamento fatorial completo 2² e resultados obtidos.

Exp.	Variáveis codificadas		Variáveis Reais		Rendimento de transesterificação (%)	
	X ₁	X ₂	Temperatura (°C)	Razão Molar (etanol: óleo)	Novozym®435	AK (SiO ₂ -PVA)
1	-1	-1	42	6	84,61	61,30
2	1	-1	58	6	69,31	29,42
3	-1	1	42	18	90,82	85,68
4	1	1	58	18	86,47	71,08
5	0	0	50	12	73,84	53,64
6	0	0	50	12	76,20	48,14
7	0	0	50	12	72,36	53,30

Para lipase AK, os rendimentos de transesterificação variaram entre 29,42 a 85,68%. Para a Novozym®435, os rendimentos de transesterificação variaram entre 69,31 a 90,82%. Em ambas as reações, os rendimentos mais elevados foram obtidos empregando meios reacionais contendo grande excesso de etanol, ou seja, maior razão molar (ensaios 3 e 4). Verifica-se, ainda, que os rendimentos de transesterificação apresentaram tendência de redução com o aumento da temperatura, para ambas as enzimas, sendo esse decréscimo mais acentuado nos ensaios 1 e 2 e nos ensaios catalisados pela lipase AK.

Comportamento similar foi descrito por Hernández-Martín e Otero (2008), que observaram modificações visuais nos testes efetuados com a Novozym®435 e demonstraram que para um carregamento de 10% (m m⁻¹) de lipase na etanólise do óleo de soja, foi necessário grande excesso de álcool para promover uma suspensão uniforme do biocatalisador. Torres et al. (2004) também verificaram que reações de etanólise catalisadas pela Novozym®435 necessitam de elevado excesso de etanol para promover bons resultados. Com relação à lipase AK imobilizada em SiO₂-PVA, Moreira

et al. (2007) verificaram alta estabilidade desta enzima em meios contendo elevado excesso de etanol, sugerindo que esta preparação de lipase é menos suscetível aos efeitos de inibição, normalmente, observados para outras preparações de lipase como *Candida rugosa* e lipase de pâncreas de porco.

Diversos trabalhos relatados na literatura mostram que o aumento da concentração de álcool em reações de transesterificação enzimática de óleos vegetais reduz o rendimento da reação pelo efeito de inativação do sistema imobilizado pelo excesso de álcool empregado (ISO et al., 2001; HSU et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2004). Ensaios conduzidos com a utilização de óleo de girassol enriquecido com ácido oleico e butanol para a síntese de biodiesel catalisada por lipase de *Mucor miehei* imobilizada (Lipozyme IM-20) foram estudados por Dossat et al. (2002). Foram utilizadas três razões molares butanol: óleo (3:1, 4:1 e 5:1) a 40°C em meios isentos de solvente, mas o rendimento global mais elevado foi obtido com a menor razão molar (3:1), com rendimento de conversão de biodiesel da ordem de 65%. O aumento da razão molar butanol: óleo promoveu aumento na concentração de mono e diacilgliceróis no meio reacional. O aumento da concentração de butanol foi responsável pela redução da concentração de biodiesel formado, pelo efeito de inativação da enzima. Estes autores propuseram que a cinética de inativação da lipase imobilizada apresenta mecanismo de inibição competitiva.

Para confirmar as tendências observadas, os efeitos individuais e de interação dos fatores (temperatura e razão molar) no rendimento de transesterificação, foram estimados com o auxílio de programa Statistica 5.0. As estimativas dos efeitos, erros-padrão e do teste t de Student's para as respostas analisadas são apresentadas na Tabela 4.

Tabela 4. Estimativa dos efeitos, erros-padrão e valores de p para o rendimento global da transesterificação do óleo de palma com etanol utilizando o derivado imobilizado em SiO₂-PVA e Novozym®435.

Variáveis	Novozym®435			Lipase AK (SiO ₂ -PVA)		
	Efeito	Erro-padrão	p	Efeito	Erro-padrão	p
Média	79,09	± 0,73	0,000*	57,51	± 1,16	0,000*
Temperatura (X ₁)	-9,82	± 1,94	0,036*	-23,24	± 3,08	0,017*
Razão molar (X ₂)	11,68	± 1,94	0,026*	33,02	± 3,08	0,008*
X ₁ X ₂	5,47	± 1,94	0,105	8,64	± 3,08	0,107

*significativo em nível de 95% de confiança.

De acordo com a análise estatística, as variáveis (X₁ - temperatura e X₂ - razão molar) foram significativas para ambos os biocatalisadores, em nível de 95% de confiança (p < 0,05). A interação

X_1X_2 não apresentou efeito significativo para a variável resposta ($p > 0,05$).

A partir desses dados, foi possível compor um modelo estatístico correspondente aos efeitos significativos por análise de regressão múltipla para um modelo linear. O termo da interação foi excluído do modelo por não apresentar significância. A melhor função linearizada pode ser demonstrada pelas equações dispostas na Tabela 5.

Tabela 5. Modelos preditos pelas análises estatísticas das variáveis em estudo para as diferentes enzimas.

Enzima	Modelo	R ²
Novozym® 435	\hat{Y} (%) = 82,80 - 4,91X ₁ + 5,84X ₂	0,9812
Lipase AK (SiO ₂ -PVA)	\hat{Y} (%) = 61,87 - 11,62X ₁ + 16,51X ₂	0,9900

Em que: \hat{Y} representa a variável resposta (rendimento de transesterificação) e X_1 e X_2 representam os valores codificados para a temperatura e razão molar, respectivamente.

A significância estatística dos modelos foi avaliada pelo teste F (Tabela 6) demonstrando que as regressões foram significativas a 95% de nível de confiança e apresentam bom coeficiente de determinação ($R^2 > 0,98$).

Tabela 6. Análise de variância para o rendimento global da transesterificação do óleo de palma com etanol, utilizando o derivado imobilizado em SiO₂-PVA e Novozym® 435.

Variáveis	Lipase AK (SiO ₂ -PVA)				Novozym® 435			
	SQ	GL	F	p	SQ	GL	F	p
X ₁	540,09	1	56,86	0,017*	96,53	1	25,73	0,037*
X ₂	1090,32	1	114,79	0,008*	136,54	1	36,40	0,026*
X ₁ X ₂	74,65	1	7,86	0,107	29,97	1	7,99	0,106
Erro Puro	18,99	2			7,50	2		
R ²								0,9812

*significativo em nível de 95% de confiança. X₁ = temperatura e X₂ = razão molar. SQ: Soma quadrática. GL: graus de liberdade. F: teste estatístico de comparação da variância nos ensaios, permitindo a avaliação da qualidade do ajuste do modelo.

Os valores de R² indicam que os modelos podem explicar mais de 98% da variabilidade experimental e foram considerados adequados para descrever o rendimento das reações de transesterificação como função das variáveis estudadas.

Os valores preditos pelos modelos e representados pela superfície de resposta (Figura 1) indicam que para as reações catalisadas pelas lipases AK imobilizada em SiO₂-PVA e Novozym® 435, os rendimentos de transesterificação mais elevados (85,68 e 90,82%), podem ser obtidos empregando meio reacional constituído de óleo de palma e etanol numa razão molar (etanol: óleo) de 18:1 a 42°C.

Empregando-se o programa Design-Expert 6.0, procedeu-se à busca dos valores máximos de rendimento de transesterificação. Desta forma, as condições experimentais ótimas para se obter o

rendimento máximo para a lipase AK imobilizada em SiO₂-PVA são: nível alto de razão molar e baixo de temperatura, aproximadamente 18:1 (etanol: óleo) e 42°C, respectivamente. Para a lipase Novozym® 435, o rendimento máximo foi obtido com nível alto de razão molar, para uma ampla faixa de temperatura. Esses valores são melhores visualizados na Figura 2. Na região em destaque podem-se obter rendimentos superiores a 80 e 85% empregando-se as lipases AK e Novozym® 435, respectivamente.

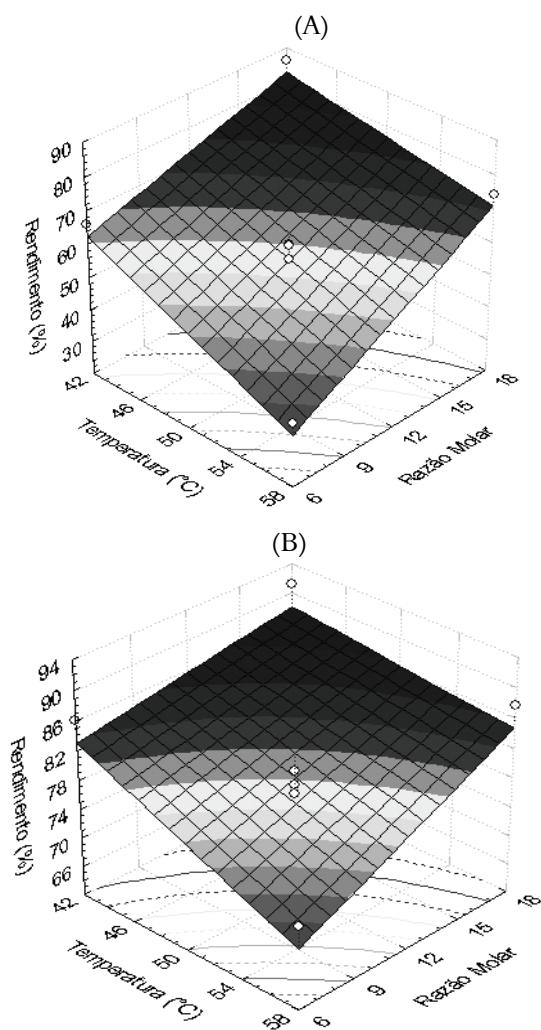


Figura 1. Superfície de resposta para o rendimento de transesterificação em função da temperatura e razão molar para a lipase AK imobilizada em SiO₂-PVA (A) e para a lipase Novozym® 435 (B).

O comportamento de diferentes lipases na síntese de biodiesel tem sido também investigado por diversos pesquisadores. Oliveira et al. (2004) reportaram dados referentes à síntese de biodiesel por etanólise enzimática do óleo de mamona em meio contendo *n*-hexano como solvente,

empregando como catalisadores duas lipases imobilizadas disponíveis comercialmente (Lipozyme IM e Novozym®435). Os autores adotaram um delineamento experimental, segundo Taguchi, e concluíram que dependendo da condição experimental utilizada, as lipases apresentam diferentes comportamentos. Para ambas as lipases, as condições que maximizaram a conversão foram: temperatura 65°C e concentração de enzima 20% m⁻¹. Entretanto, para a Lipozyme IM, rendimentos mais elevados foram obtidos utilizando uma razão molar etanol: óleo de 3:1 enquanto que para a Novozym®435, a melhor razão molar etanol:óleo foi 10:1 com uma concentração de água de 10% m⁻¹. Foram obtidas conversões experimentais de 81,4% para a Novozym®435 e 98% para a Lipozyme IM, de acordo com os valores teóricos (82 e 97%).

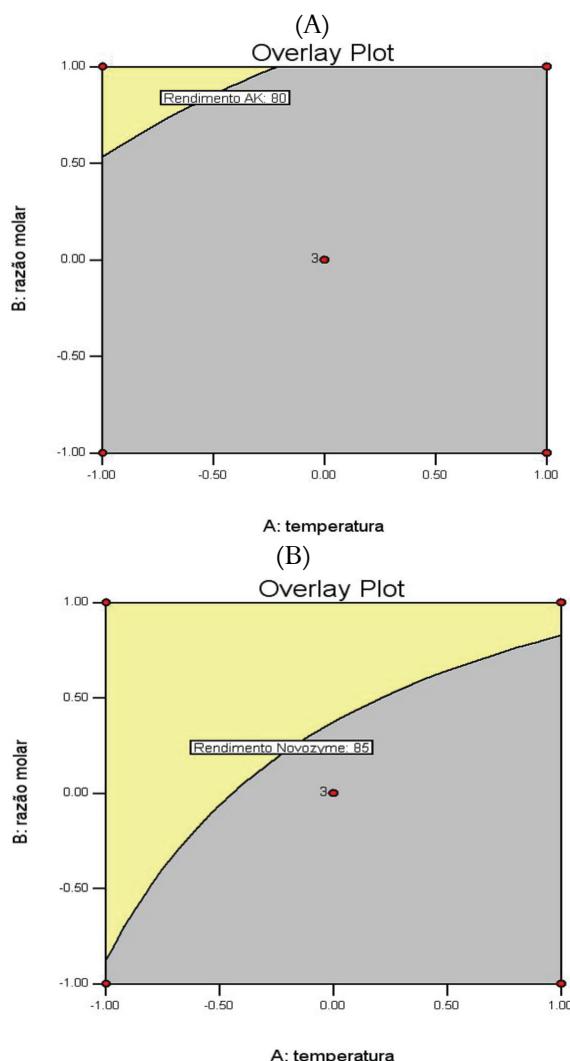


Figura 2. Curvas de níveis obtidas do rendimento de transesterificação em função da temperatura e razão molar para as reações catalisadas pela lipase AK imobilizada em SiO₂-PVA (A) e Novozym®435 (B).

Rodrigues et al. (2008) determinaram a habilidade de três lipases imobilizadas disponíveis comercialmente (Lipozyme TL IM, Lipozyme RM IM e Novozym®435) na transesterificação de diferentes óleos vegetais (soja, girassol e arroz), bem como o efeito da razão molar etanol: óleo e da temperatura de reação utilizando como doador acila diferentes álcoois (metanol, etanol, propanol e butanol). As três enzimas apresentaram cinética de reação com os três óleos e nenhuma diferença significativa foi observada. Entretanto, o desempenho de cada lipase nas reações de transesterificação foi fortemente influenciado pelos diferentes álcoois: Novozym®435 apresentou melhores rendimentos (45%) nas reações de metanolise, empregando razão molar de 5:1 (metanol:óleo); Lipozyme TL-IM mostrou-se mais efetiva em reações de etanolise, com rendimento de 55%, empregando razão molar 7:1 (etanol:óleo) e Lipozyme RM-IM apresentou elevados rendimentos (55%) nas reações de butanolise, com razão molar de 9:1 (butanol:óleo). Para ambas as lipases, a temperatura ótima de reação situou-se na faixa de 30 - 35°C.

Conclusão

O estudo comparativo de diferentes fontes de lipase na síntese de biodiesel, a partir do óleo de palma pela rota etílica, mostrou que o tipo de enzima utilizada afetou acentuadamente a velocidade de reação. Novozym®435 foi a lipase imobilizada que promoveu rendimentos mais elevados e em menor tempo reacional. Para as mesmas condições, tanto a temperatura como a razão molar apresentaram resultados significativos estatisticamente nos rendimentos das reações catalisadas pelas preparações de lipase testadas. As condições otimizadas preditas pelo planejamento fatorial foram: temperatura de 42°C e razão molar etanol/óleo de 18:1 para ambas as lipases. Entretanto, observou-se que a razão molar foi a variável que exerceu maior influência nas reações, as quais apresentaram rendimentos mais elevados com a utilização de níveis mais altos.

Agradecimentos

Os autores agradecem o auxílio financeiro recebido da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

- AKOH, C. C.; CHANG, S. W.; LEE, G. C.; SHAW, J. F. Enzymatic approach to biodiesel production. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 55, n. 22, p. 8995-9005, 2007.

- BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; WUNTER, J. S. **Statistics for experimenters:** An introduction to designs, data analysis and model building. New York: Wiley, 1978.
- DOSSAT, V.; COMBES, D.; MARTY, A. Lipase-catalysed transesterification of high oleic sunflower oil. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 30, n. 1, p. 90-94, 2002.
- DU., W.; XU, Y.; LIU, D.; SENG, J. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 30, n. 3-4, p. 125-129, 2004.
- DU, W.; LI, W.; SUN, T.; CHEN, X.; LIU, D. Perspectives for biotechnological production of biodiesel and impacts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 3, p. 331-337, 2008.
- HERNÁNDEZ-MARTÍN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym®435 and Lipozyme® TL IM. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 2, p. 277-286, 2008.
- HSU, A. F.; JONES, K. C.; FOGLIA, T. A.; MARMER, W. N. Optimization of alkyl ester production from grease using a phyllosilicate sol-gel immobilized lipase. **Biotechnology Letters**, v. 25, n. 20, p. 713-716, 2003.
- ISO, M.; CHEN, B.; EGUCHI, M.; KUDO, T.; SHRESTHA, S. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 16, n. 1, p. 53-58, 2001.
- KALAM, M. A.; MASJUKI, H. H. Biodiesel from palm oil - An analysis of its properties and potential. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, n. 6, p. 471-479, 2002.
- KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual do Biodiesel**. 1. ed. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.
- MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.;ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 11, n. 6, p. 1300-1311, 2007.
- MOREIRA, A. B. R.; PEREZ, V. H.; ZANIN, G. M.; CASTRO, H. F. Biodiesel synthesis by enzymatic transesterification of palm oil with ethanol using lipases from several sources immobilized on silica-PVA composite. **Energy and Fuels**, v. 21, n. 6, p. 3689-3694, 2007.
- MYERS, R. H.; MONTGOMERY, D. C. **Response surface methodology:** Process and product optimization using designed experiment. New York: John Wiley and Sons Inc., 1995.
- OLIVEIRA, D.; LUCCIO, M.; FACCIO, C.; DALLA ROSA, C.; BENDER, J. P.; LIPKE, N.; MENONCIN, S.; AMROGINSKI, C.; OLIVEIRA, J. V. Optimization of enzymatic production of biodiesel from castor oil in organic solvent medium. **Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology**, v. 113, n. 1-3, p. 771-780, 2004.
- PAULA, A. V.; MOREIRA, A. B. R.; BRAGA, L. P.; BRUNO, L. M.; CASTRO, H. F. Comparação do desempenho da lipase de *Candida rugosa* imobilizada em suporte híbrido de polissiloxano-polivinilálcool empregando diferentes metodologias. **Química Nova**, v. 31, n. 1, p. 35-40, 2008.
- PINTO, A. C.; GUARERO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 16, n. 6, p. 1313-1330, 2005.
- RODRIGUES, R. C.; VOLPATO, G.; WADA, K.; AYUB, M. A. Z. Enzymatic synthesis of biodiesel from transesterification reactions of vegetable oils and short chain alcohols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 85, n. 10, p. 925-930, 2008.
- SALIS, A.; PINNA, M.; MONDUZZI, M.; SOLINAS, V. Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. **Journal of Biotechnology**, v. 119, n. 3, p. 291-299, 2005.
- SHIMADA, Y.; WATANABE, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 17, n. 3-5, p. 133-142, 2002.
- SOARES, C. M. F.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 77-79, p. 745-757, 1999.
- SUAREZ, P. A. Z.; SANTOS, A. L. F.; RODRIGUES, J. P.; ALVES, M. B. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 768-775, 2009.
- TORRES, C. F.; HILL, C. G.; OTERO, C. Lipase-catalyzed ethanolation of borage oil: A kinetic study. **Bioresource Technology**, v. 20, n. 3, p. 756-763, 2004.
- URIOSTE, D.; CASTRO, M. A. B.; BIAGGIO, F. C.; CASTRO, H. F. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de métodos para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 407-412, 2008.

Received on July 2, 2009.

Accepted on July 2, 2010.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.