



SÍNTESE DE ETIL OLEATO A PARTIR DA CATÁLISE ENZIMÁTICA

WESLLER BAÚ^{1,2}, MARLUCI MARANGONI³, CLARISSA DALLA ROSA^{2,4}.

1. Introdução

A reação de esterificação consiste na obtenção de ésteres a partir da reação entre um ácido graxo e um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol), com formação de água como subproduto (SANTOS, 2016).

No entanto, existem vários desafios técnicos que precisam melhorar a viabilidade econômica para o uso desses biocatalisadores, dentre eles estão o alto custo das enzimas, perda de atividade durante o processo, a inibição da enzima por reagentes e produtos, e as taxas de reação lenta. Apesar disso, diferentes processos vem sendo utilizados para minimizar esses desafios, onde dentre eles estão o uso de lipases tolerantes a solventes a reutilização de catalisadores de lipases imobilizadas e diferentes fontes de materias primas (FUKUDA *et al.*, 2001). Dentre os catalisadores enzimáticos encontra-se a lipase NS – 40116, que apresenta bom desempenho nas reações de transesterificação e um preço economicamente viável.

2. Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo investigar as condições de síntese do etil oleato, importante produto para indústria de energia, química e de alimentos. A reação utilizada neste trabalho será catalisada pela enzima lipase NS – 40116 de origem microbiana produzida pela indústria Novozymes.

3. Material e Métodos

¹ Acadêmico do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, bolsista UFFS, contato: bauwesller0@gmail.com

² Grupo de Pesquisa em Resíduos, Geotecnia Ambiental e Poluição Atmosférica.

³ Mestre em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁴ Docente do curso de Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, Orientador.



A lipase utilizada é uma formulação líquida de enzima livre termoestável desenvolvida recentemente pela empresa Novozymes®, denominada NS-40116, produzida e modificada a partir do fungo termofílico *Thermomyces lanuginosus*.

3.1. Determinação da atividade enzimática

As amostras foram preparadas contendo 0,1 g da enzima e a relação molar óleo:etanol utilizada foi de 1:6 (m/m). Logo em seguida as amostras foram submetidas ao agitador orbital durante 40 minutos a temperatura de 45°C e agitação de 160 rpm para determinação da atividade enzimática. Os ensaios dos brancos continham 0,5mL da mistura padrão e 15mL da solução acetona-etanol.

3.2. Reações de Esterificação

Os ensaios de esterificação foram realizados em batelada. Conforme metodologia descrita por Ferraz *et al.* (2012), foram realizadas as reações de esterificação do ácido oleico e do etanol (razão molar de 1:6 (m/m)) em um volume de aproximadamente 5mL, utilizando 0,1g da lipase NS-40116 livre como catalisador e 0,5g de água. Depois de preparadas as amostras foram vedadas e dispostas em agitador orbital a 45°C e 250 rpm. O tempo de reação foi variado em 5, 15, 30, 45, 60, 120, 180 e 240 min a fim de determinar a conversão de ácidos graxos e a influência das variáveis ácido oleico e etanol com o passar do tempo.

Para a determinação dos ácidos graxos livres, foi utilizado o método de Freire *et al.* (1997) nas amostras da reação enzimática. A cada alíquota de 10mL do meio reacional, foram adicionados 50mL de uma solução de éter-etanol (razão molar 1:1 (m/m)) para frear a reação. Na sequência, cada amostra foi titulada com solução de NaOH 0,02 N até pH 11.

4. Resultados e Discussão

Os resultados obtidos a partir da esterificação de ácido oleico com etanol a 45 °C empregando o catalisador enzimático são apresentados abaixo. Os resultados são descritos como valores médios de triplicatas dos ensaios realizados.

Tabela 1. Valores de conversão de ácido graxo residual



Tempo (min)	Ácido graxo residual (%)	Erro
5	98,0	1,5
15	91,7	3,0
30	70,7	4,1
45	53,7	4,1
60	33,2	4,6
120	9,9	0,7
180	7,6	0,4
240	7,3	0,6

Fonte: Elaborada pelo autor.

A partir dos dados da Tabela 1 observa-se um consumo mais acentuado de ácido graxo nos primeiros tempos reacionais, quando há maior quantidade de substratos disponíveis, o que favorece as reações de esterificação. Após 120 min de reação, o consumo de ácidos graxos apresenta uma tendência de estabilização.

Dentre os parâmetros relevantes nestas reações, está o conteúdo de água. Ela é necessária para realizar algumas etapas da reação, como a hidrólise do ácido graxo da estrutura do triacilglicerol para que, em seguida, o mesmo seja esterificado com o álcool. Além disso, a água é necessária para hidratar a própria enzima, permitindo que o seu sítio ativo encontre o substrato (HAMA, KONDO, 2018; SANTOS, 2016).

Tabela 2. Resultados de atividade enzimática dos experimentos.

Tempo (min)	Atividade Enzimática (U/g)
30	1767,46
60	621,00
120	433,95

Fonte: Elaborada pelo autor.

Observando a Tabela 2, é possível concluir que a enzima tem seu pico de produtividade nos primeiros 30 minutos e vai perdendo atividade com o tempo. Isso ocorre pois há um maior consumo de substrato nos primeiros minutos, decaindo com o passar do tempo e reduzindo assim a atividade da lipase.

5. Conclusão

Os dados do estudo da esterificação de ácido oleico com etanol, empregando



catalisador enzimático, confirmam um consumo mais acentuado de ácido graxo nos primeiros tempos reacionais, quando há maior quantidade de substratos disponíveis, o que favorece as reações de esterificação. Após 60 min de reação, o consumo de ácidos graxos apresenta uma tendência de estabilização.

Também foi constatado que a enzima trabalha melhor nas condições em que as reações apresentavam água. Isso ocorre devido ao fato de que em condições do sistema em que não há água, a enzima sofre desidratação e não realiza a hidrólise do triaglicerol não liberando os ácidos graxos, e assim parando a reação. Sendo assim, a pesquisa corrobora com outros dados da literatura mostrando que a lipase NS-40116 é eficiente na síntese de etil oleato.

Referências

FERRAZ, Lenir Rigoli. **Produção e caracterização parcial de lipase de *Sporobolomyces ruberrimus* utilizando como substratos resíduos agroindustriais**. 2010. Dissertação de Mestrado–Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2010.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. **Biodiesel fuel production by transesterification of oils**. Journal of bioscience and bioengineering, v. 92, n. 5, p. 405–416, 2001. Elsevier.

HAMA, S.; NODA, H.; KONDO, A. How lipase technology contributes to evolution of biodiesel production using multiple feedstocks. Current Opinion in Biotechnology, v. 50, p. 57–64, 2018.

SANTOS, J. M. B. dos. **Produção de ésteres metílicos a partir de óleo de macaúba bruto (*acrocomia aculeata*) empregando enzima livre**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, 2016.

Palavras-chave: Etil oleato, lipase NS-40116, esterificação.

Financiamento: UFFS