



AVALIAÇÃO DA ENZIMA NS-40116 NA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE BIODIESEL UTILIZANDO EFLUENTE FRIGORÍFICO

LUIZ FELIPE KLEIN^{1,2*}, LIANE C. RUSZCZYK³, CLARISSA DALLA ROSA^{2,4}

1 Introdução

Nos últimos anos, a busca por biocombustíveis vem crescendo cada vez mais, e o biodiesel é um desses combustíveis que pode ser produzido a partir de fontes naturais renováveis (LEE *et al.*, 2003). O biodiesel pode ser obtido a partir de três processos: pirólise, microemulsão e trans/esterificação, sendo a transesterificação enzimática a mais indicada para matérias primas ricas em ácidos graxos, como óleos residuais, gordura frigorífica, dentre outros (DU *et al.*, 2008).

2 Objetivos

O presente projeto buscará avaliar a produção de biodiesel por transesterificação de ácidos graxos no efluente de frigorífico de aves, utilizando como catalisador a enzima lipase NS-40116.

3 Material e Métodos/Metodologia

3.1 Realização do Planejamento de Experimentos

Fazendo uso da metodologia de Planejamento Experimental, foram realizados ensaios para determinação de atividade enzimática, ácidos graxos livres (AGL), e análise de ésteres. Para tanto, a cada ensaio realizado preparou-se seis meios reacionais contendo diferentes concentrações de enzima NS-40116 (0,3; 0,5 e 0,7%) e diferentes razões molares óleo:etanol (1:3; 1:4 e 1:5). Os meios reacionais permaneceram 18 horas a uma temperatura de 45°C e

¹Graduando em Engenharia Ambiental e Sanitária, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim, **Bolsista**, contato: luiz_f_klein@hotmail.com.

²Grupo de Estudos e Pesquisa em Agroenergia.

³Graduanda em Engenharia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim.

⁴Doutorado em Engenharia de Alimentos, Universidade Federal da Fronteira Sul, **Orientador**.



agitação de 250 rpm, fornecidas por um agitador orbital. A cada 2 horas um dos meios foi retirado do agitador e realizadas as análises necessárias.

3.2 Determinação da atividade da enzima NS-40116

A atividade da enzima foi determinada seguindo metodologia adaptada a partir dos procedimentos descritos por Oliveira *et al.* (2006). Onde adicionou-se 0,10 g do precipitado resultante da centrifugação em um béquer de vidro, juntamente com 10 g de óleo de soja e 2 % (0,20 g) de água e levado para agitação. Ao final de 30 minutos sob agitação de 250 rpm e 45 °C, adiciona-se 20 mL de acetona-etanol (1:1) para cessar a reação enzimática. A quantidade de ácidos graxos foi determinada por titulação com NaOH 0,05 M.

3.3 Determinação de ésteres etílicos

Para a determinação de ésteres etílicos utilizou-se a metodologia descrita por Dalla Rosa (2006), segundo a qual, as amostras foram preparadas transferindo-se 250 mg da amostra para um balão volumétrico de 10 mL, completando o volume até o menisco com o solvente n-heptano. Após, transfere-se uma alíquota de 50 µL da solução para um balão volumétrico de 1 mL e 50 µL do padrão interno heptadecanoato de metila (C17:0) na concentração de 5000 mg/L, completando-se o volume com n-heptano. A solução foi então injetada seguindo as condições cromatográficas descritas pela Norma EN 14103 (2003), do Comitê Europeu.

3.4 Determinação de ácidos graxos livres (AGL)

A determinação de ácidos graxos livres (AGL) foi realizada nas amostras após o tempo de reação de transesterificação e através da técnica de titulação de acordo com a IUPAC 2.201. Seguindo essa técnica, pesou-se 1,5g da amostra em um erlenmeyer de 300 ml, adicionou-se 50ml de uma solução de etanol anidro:éter etílico (v/v), homogeneizou-se e adicionou-se 5 gotas de indicador fenolftaleína 1% para indicar o ponto de viragem. Em seguida, titulou-se com uma solução de KOH 0,1N.

4 Resultados e Discussão

Após os testes, verificou-se que a razão molar que apresentou os maiores resultados de conversão foi a razão óleo:etanol 1:4 e a concentração da enzima de 0,5%. Estes resultados

estão apresentados na Tabela 1, abaixo.

Tabela 1. Resultados de AGLs, atividade enzimática e conversão em ésteres para a razão molar óleo:etanol 1:4 e concentração da enzima de 0,5%.

Tempo de reação (h)	Razão Molar	Enzima (%)	AGL ($\mu\text{mol/mL}$)	Atividade enzimática (U/g)	Conversão em ésteres (%)
2	1:4	0,5	49,3 \pm 2,5	5,4 \pm 0,3	74,0 \pm 11,2
2	1:4	0,5	55,2 \pm 2,5	6,2 \pm 0,3	76,6 \pm 11,2
2	1:4	0,5	53,5 \pm 2,5	5,8 \pm 0,3	98,9 \pm 11,2
4	1:4	0,5	52,2 \pm 3,2	3,4 \pm 0,4	75,5 \pm 28,0
4	1:4	0,5	56,0 \pm 3,2	2,6 \pm 0,4	77,9 \pm 28,0
4	1:4	0,5	48,1 \pm 3,2	3,6 \pm 0,4	136,1 \pm 28,0
6	1:4	0,5	55,2 \pm 1,2	2,6 \pm 0,4	73,3 \pm 20,3
6	1:4	0,5	53,4 \pm 1,2	1,8 \pm 0,4	77,3 \pm 20,3
6	1:4	0,5	52,3 \pm 1,2	1,8 \pm 0,4	118,2 \pm 20,3
8	1:4	0,5	53,2 \pm 5,6	1,9 \pm 0,3	69,8 \pm 9,1
8	1:4	0,5	43,5 \pm 5,6	1,7 \pm 0,3	87,9 \pm 9,1
8	1:4	0,5	40,1 \pm 5,6	1,2 \pm 0,3	90,1 \pm 9,1
10	1:4	0,5	52,3 \pm 3,0	0,8 \pm 0,3	79,8 \pm 1,8
10	1:4	0,5	45,2 \pm 3,0	1,5 \pm 0,3	76,9 \pm 1,8
10	1:4	0,5	46,9 \pm 3,0	1,1 \pm 0,3	81,1 \pm 1,8
12	1:4	0,5	53,2 \pm 1,2	1,5 \pm 0,2	75,8 \pm 3,6
12	1:4	0,5	54,3 \pm 1,2	1,2 \pm 0,2	84,5 \pm 3,6
12	1:4	0,5	51,3 \pm 1,2	0,9 \pm 0,2	79,2 \pm 3,6

Pode-se verificar, a partir da Tabela 1, pequenas variações na concentração de ácidos graxos ao longo das horas, o que pode indicar que as amostras estão realizando reações de hidrólise em determinado momento, onde os AGLs acabam sendo convertidos em ésteres, e em outro momento ocorrem reações de transesterificação, transformando os ésteres em AGLs.

Os resultados da Tabela 1, também mostram que a enzima NS-40116 ao longo do tempo reacional apresenta perda de atividade, sendo que este efeito foi acentuado a partir das 8 horas. Em relação à conversão em ésteres, de uma forma geral, pode-se afirmar que os valores de teor de ésteres não obtiveram uma grande variação. Isso significa que o catalisador utilizado é bastante robusto e consequentemente capaz de tolerar até mesmo grandes variações em diferentes condições operacionais.

5 Conclusão



Ao se utilizar um catalisador enzimático, se tem uma maior facilidade na recuperação do glicerol produzido, comparado aos processos de catálise química, além disso sua qualidade é superior. A produção de resíduos e efluentes químicos também é reduzido significativamente nos processos enzimáticos, corroborando a relevância ambiental e de conservação a nível de processo produtivo que envolve este estudo.

Referências

DALLA ROSA, C. **Produção de ésteres etílicos a partir de óleos de soja utilizando lipase em propano**. Dissertação de Mestrado- Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, 2006.

DU, W.; LI, W.; SUN, T.; CHEN, X.; LIU, D.; Perspectives for biotechnological production of biodiesel and impacts. **Appl Microbiol Biotechn**, v. 79, p. 331–337, 2008.

IUPAC. Standard methods for the analysis of oils, fats and derivatives. 1991. Disponível em: < http://old.iupac.org/publications/books/ISBN0632033371_compress.pdf>. Acesso em: 30 set. 2017.

LEE, I.; JOHNSON, L. A.; HAMMOND, E. G. Use of branched-chain esters to reduce the crystallization temperature of Biodiesel. **JAOCs**, v. 72, p. 1155–1160, 1995.

OLIVEIRA, F. C. DE; COELHO, S. T. History, evolution, and environmental impact of biodiesel in Brazil: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 75, n. November 2016, p. 168–179, 2017.

Palavras-chave: transesterificação; ésteres; ácidos graxos.

Financiamento

PROBIC - FAPERGS