

Utilização de óleo de palma para a síntese enzimática de biodiesel etílico

Pedro Alves Martins (Universidade de Brasília, Embrapa Agroenergia, pedropam.bio@gmail.com), Thályta Fraga Pacheco (Embrapa Agroenergia, thalyta.pacheco@embrapa.br), Diogo Keiji Nakai (Embrapa Agroenergia, diogo.nakai@embrapa.br), Janice Lisboa De Marco (Universidade de Brasília, janicedemarco@unb.br), Thaís Fabiana Chan Salum (Embrapa Agroenergia, thais.salum@embrapa.br)

Palavras-Chave: *Burkholderia gladioli*, lipase, biodiesel.

1 - Introdução

O óleo de palma é um óleo vegetal de grande versatilidade, sendo utilizado, atualmente, em diversos setores da indústria, como o de alimentos, cosméticos, detergentes e também para manufatura de graxas, lubrificantes e biodiesel. Ademais da versatilidade de aplicações do óleo produzido, o custo de produção do óleo de palma é inferior se comparado a outros óleos vegetais (Carter *et al.*, 2007), fazendo com que o dendezeiro (*Elaeis guineensis* Jacq.) seja considerado uma planta de grande importância comercial.

As lipases são biocatalisadores com potencial de aplicação para síntese de biodiesel por uma rota mais sustentável, sendo capazes de contornar os problemas oriundos da produção deste biocombustível pela rota tradicional com a catálise alcalina. Uma das vantagens de se utilizar lipases está na capacidade destas enzimas sintetizarem mono-álquil ésteres tanto a partir de triacilgliceróis (transesterificação) quanto de ácidos graxos livres (esterificação). Esta característica torna o processo de produção do biodiesel enzimático atrativo para o uso de matérias primas de baixo valor agregado, como óleos de menor qualidade e maior acidez (maior quantidade de ácidos graxos livres), como é o caso dos óleos de palma, de macaúba e de óleos de fritura usados. Outras vantagens em relação à catálise alcalina são, ainda, o menor consumo de água em etapas de lavagem, o menor consumo de energia no processo de obtenção de glicerol de alta qualidade e de fácil recuperação.

Apesar de todas as vantagens, a produção de biodiesel por catálise enzimática ainda é um processo dispendioso devido ao alto custo de obtenção destas enzimas, sendo a obtenção e utilização destes biocatalisadores um dos grandes obstáculos à consolidação deste processo pela indústria (Liu *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014). Deste modo, a busca por novas e eficientes lipases, bem como a determinação de condições otimizadas do processo de reação são necessárias para aumentar a produção de lipases e superar essa limitação.

Neste trabalho aplicou-se os sólidos fermentados obtidos do cultivo de *Burkholderia gladioli* BGL579 contendo lipase, para a síntese de biodiesel etílico a partir de um meio reacional contendo óleo de palma e etanol, bem como otimizar as condições de temperatura e quantidade de água adicionada à reação de síntese, objetivando a redução dos custos associados à produção do biodiesel.

2 - Material e Métodos

As lipases foram produzidas por fermentação em estado sólido utilizando a bactéria *B. gladioli* BGL579 (isolada a partir de frutos de dendê e mantida na coleção

“Microorganismos e Microalgas Aplicados à Agroenergia e Biorrefinarias” – CMMAABio). A fermentação foi realizada em farelo de trigo com adição de óleo de soja (1%) e umidade de 65%. Ao final do cultivo, os sólidos fermentados resultantes contendo a lipase foram liofilizados (SFL) e utilizados como biocatalisadores para a reação de transesterificação.

Para a etapa de otimização das condições de temperatura de reação e de quantidade de água adicionada ao meio reacional que favorecessem a síntese de ésteres etílicos (FAEE) foi feita por meio de planejamento experimental do tipo delineamento composto central rotacional (DCCR). Foram considerados cinco níveis e duas variáveis independentes na análise. O experimento foi conduzido conforme matriz gerada com duas variáveis e três repetições do ponto central, totalizando 11 experimentos. Foi utilizado alfa de ortogonalidade (1,41). As variáveis independentes consideradas foram: temperatura de reação variando de 19,5 °C a 44,9 °C (X_1) e quantidade de água adicionada ao meio reacional variando de 0 a 10% m/m (X_2). A estequiometria da reação (razão molar) foi fixada em 1 mol de óleo de palma (Denpasa) para 1 mol de álcool etílico (Sigma), sendo utilizados um total de 5 mmol de cada substrato e carga enzimática de 1 g de SFL por frasco de reação. As reações foram conduzidas em frascos do tipo Erlenmeyer, sob agitação de 170 rpm em agitador orbital de bancada com temperaturas controladas. A síntese de FAEE foi avaliada após 72 horas de reação, medindo-se as massas dos ésteres formados, conforme método de quantificação por Cromatografia Líquida de Ultra Eficiência (UPLC) com uma coluna C18 e um Detector Evaporativo de Espalhamento de Luz (ELSD).

A análise estatística dos dados experimentais obtidos foi feita utilizando o *software* Statistica v. 12.0. Foi considerado um nível de significância de 90% ($p < 0,1$), devido à variabilidade dos bioprocessos (Haaland, 1989). Para validação do modelo obtido, novas reações de síntese foram realizadas em condições de alta conversão previstas pelo modelo.

3 - Resultados e Discussão

Após condução das reações referentes às condições da matriz gerada, o teor de FAEE foi avaliado (Tabela 1). A análise estatística demonstrou que ambas as variáveis influenciaram significativamente o teor de FAEE obtido da reação de síntese de biodiesel com óleo de palma e álcool etílico.

A análise de variância (ANOVA) indicou que o modelo foi significativo e satisfaz os requisitos para a construção de uma superfície de resposta (Figura 1). Além disso, a ANOVA indica que o modelo é adequado para fins preditivos, já que a relação de $F_{\text{calc}} / F_{\text{tab}}$ obtida foi superior

a 3, conforme recomendado por Box (1978). Devido à boa correlação entre os valores preditos e as análises de variância do modelo gerado, este foi considerado válido para descrever o processo de síntese de FAEE com SFL de *B. gladioli* BGL579.

Tabela 1. DCCR com variáveis reais e codificadas (entre parênteses) para otimização das condições de síntese de FAEE por SFL de *B. gladioli* BGL579, a partir de óleo de palma e etanol. Condições: razão molar 1:1, 170 rpm, 72 h.

#	Temperatura (°C) (X ₁)	Água m/m (%) (X ₂)	FAEE (%)
1	23,2 (-1)	1,5 (-1)	20,1 ± 2,1
2	23,2 (-1)	8,6 (1)	24,5 ± 0,8
3	41,2 (1)	1,5 (-1)	27,4 ± 1,6
4	41,2 (1)	8,6 (1)	29,9 ± 0,7
5	19,5 (-1,41)	5,0 (0)	26,2 ± 0,2
6	44,9 (1,41)	5,0 (0)	30,9 ± 0,8
7	32,2 (0)	0,0 (-1,41)	22,9 ± 0,4
8	32,2 (0)	10,0 (1,41)	30,0 ± 2,2
9	32,2 (0)	5,0 (0)	29,9
10	32,2 (0)	5,0 (0)	29,4
11	32,2 (0)	5,0 (0)	23,1

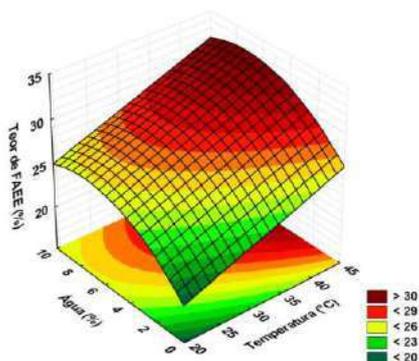


Figura 1. Superfície de resposta obtida para a síntese de FAEE em função da temperatura e da quantidade de água adicionada ao meio reacional.

A função $f(x)$ que descreve a síntese de FAEE nas condições de reação compreendidas na faixa analisada é apresentada na Equação 1, com variáveis codificadas e considerando apenas os parâmetros estatisticamente significativos ($p < 0,1$).

$$f(x) = 28,04 + 2,45.X_1 + 2,015.X_2 - 1,53.X_2^2 \quad (\text{Eq. 1})$$

A partir da função obtida e da superfície de resposta apresentada, encontrou-se o ponto de inflexão com máximo de teor de FAEE predito de 32,7% para as condições de temperatura de 44,9 °C ($X_1 = 1,41$) e quantidade de água adicionada ao meio reacional de 7,3% m/m ($X_2 = 0,69$). Assim, foi realizada a reação nas condições de validação encontrando-se um teor de FAEE de 29,4 ± 0,9%, que foi correspondente a 88,2% do máximo teor de FAEE possível (33,33%) considerando uma razão molar 1:1.

A temperatura que proporciona maior síntese de FAEE obtida por este trabalho foi próxima à obtida por trabalhos similares. Para os SFL obtidos do cultivo de *B. cenocepacia* a temperatura ótima para transesterificação foi de 40 °C (Liu *et al.*, 2014) e 50 °C para a linhagem de *B. cenocepacia* LTEB11 (Salum *et al.*, 2010). Em relação à

quantidade de água no meio reacional, sabe-se que sua adição é essencial para a manutenção da camada de solvatação da enzima. Entretanto, quando em excesso, pode acarretar um aumento da taxa de hidrólise em detrimento da reação de transesterificação. Assim, existe uma quantidade ótima específica para cada lipase, sendo de 7,3% a observada neste trabalho, valor superior ao encontrado por Salum *et al.* (2010) para os SFL de *B. cenocepacia* (1%).

O uso de enzimas imobilizadas tem sido proposto como uma das soluções para a redução dos custos associados ao processo de síntese enzimática de biodiesel. Uma forma de viabilizar este processo e ainda reduzir as etapas associadas à imobilização de enzimas, como a extração, purificação e imobilização em si, seria o uso dos próprios SFL obtidos de um cultivo por fermentação em estado sólido como biocatalisadores da reação de transesterificação (Liu *et al.*, 2014). Outra vantagem do uso de SFL é, ainda, a associação da produção destes com a utilização de resíduos agroindustriais, reduzindo ainda mais os custos associados ao processo e agregando valor a um resíduo outrora desprezado (Salum *et al.*, 2010).

4 – Conclusões

Os sólidos fermentados obtidos do cultivo de *Burkholderia gladioli* BGL579 foram capazes de catalisar a síntese de FAEE a partir de óleo de palma e etanol. A possibilidade do uso de matérias-primas de menor qualidade e maior acidez, como o óleo de palma, revela uma vantagem da utilização de biocatalisadores para síntese de biodiesel.

5 – Agradecimentos

Embrapa, UnB, CAPES e FINEP

6 - Bibliografia

- BOX, G.E.P.; HUNTER, W.G.; HUNTER, J.S. Statistics for experimenters: design, innovation and discovery. John Wiley & Sons: New York (1978).
- CARTER, C.; FINLEY, W.; FRY, J.; JACKSON, D.; WILLIS, L. Palm oil markets and future supply. *European Journal of Lipid Science and Technology* **2007**, 109, 307-314.
- HAALAND, P.D. Experimental design in biotechnology. Marcel Dekker Inc.: New York (1989).
- LIU, Y.; LI, C.; MENG, X.; YAN, Y. Biodiesel synthesis directly catalyzed by the fermented solid of *Burkholderia cenocepacia* via solid-state fermentation. *Fuel Processing Technology* **2013**, 106, 303-309.
- LIU, Y.; LI, C.; WANG, S.; CHEN, W. Solid-supported microorganism of *Burkholderia cenocepacia* cultured via solid state fermentation for biodiesel production: Optimization and kinetics. *Applied Energy* **2014**, 113, 713-721.
- SALUM, T.F.C.; VILLENEUVE, P.; BAREA, B.; YAMAMOTO, C.I.; CÔCCO, L.C.; MITCHELL, D.A.; KRIEGER, N. Synthesis of biodiesel in column fixed-bed bioreactor using the fermented solid produced by *Burkholderia cenocepacia* LTEB11. *Process Biochemistry* **2010**, 45, 1348-1354.