



ESTUDO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO DE FRANGO EM ULTRASSOM

Ingrid Aparecida dos Santos GUIMARÃES¹, Camila BONISSONI¹, Giniani Carla DORS², Vivian FEDDERN³, Anildo Cunha JÚNIOR³, Maria Manuela Camino FELTES⁴, Samantha Lemke GONZALES¹, Andréia Dalla ROSA¹

¹Instituto Federal Catarinense – *Campus* Concórdia, Departamento de Engenharia de Alimentos; ²Universidade Federal de Pelotas – Faculdade de Agronomia; ³EMBRAPA Suínos e Aves – Concórdia; ⁴Instituto Federal Catarinense – *Campus* Brusque, Departamento de Química

Introdução

Na agroindústria, especialmente em abatedouros frigoríficos de aves, a característica principal dos efluentes gerados é uma carga orgânica alta, composta em sua maior parte por gorduras de origem animal, oriundas do processo industrial, principalmente do processamento de subprodutos (vísceras, ossos, sangue, penas e partes condenadas) (GOMES, 2005).

Há um grande atrativo econômico para a produção de biodiesel a partir de óleos e gorduras provenientes de abates de animais (bovinos, suínos e aves), cuja alta produção implica em baixo custo e disponibilidade imediata de matéria-prima nos abatedouros. Além disto, o aproveitamento destes resíduos gordurosos contribui para a redução de impactos ambientais, evitando o destino impróprio deste material (BARROS; JARDINE, s.d).

Para a produção de biodiesel, podem ser utilizadas enzimas, que têm a função de hidrolisar óleos e gorduras, mas que também atuam na reação inversa. A principal classe de enzimas utilizadas industrialmente com esta finalidade são as lipases. Devido ao seu grande potencial para catalisar reações de modificação de lipídios, o uso de lipases vem aumentando, o que tem sido motivado por estudos para reduzir seus custos, para desenvolver catalisadores na forma imobilizada, bem para otimizar a obtenção do produto de interesse, inclusive em meios alternativos (ARAUJO, 2009).

Para auxiliar no processo enzimático, segundo Kuldiloke (2002) apud Awadallak (2012), o uso de ultrassom é um método bem estabelecido para a redução do tamanho de partículas em dispersões e emulsões. Os equipamentos de ultrassom conseguem gerar partículas nanoscópicas em dispersões como suspensões e emulsões. Além disso, iniciam várias reações através da formação de íons livres (radicais); aceleram reações químicas através da facilitação da mistura dos reagentes; aumentando velocidades de difusão; melhoram reações de polimerização ou despolimerização pela dispersão de agregados ou quebra de ligações; auxiliam a extração de substâncias como enzimas de células.

Neste sentido, o objetivo do presente estudo é obter ésteres etílicos a partir de óleo de vísceras de frango, utilizando a enzima Lipozyme RM IM em sistema de ultrassom com controle de temperatura, visando o desenvolvimento sustentável e uma maior eficácia do processo, que não



gere resíduos na reação.

Material e Métodos

Utilizou-se como matéria-prima o óleo de vísceras de frango fornecido pelo Grupo Farol de Concórdia-SC. Este óleo (sem tratamento adicional), previamente caracterizado segundo metodologia oficial da American OilChemist's Society (AOCS, 2003), apresentava as seguintes características: índice de acidez (em % de ácido oleico) de $2,4747\% \pm 0,2258$, índice de peróxido (meq O_2 kg⁻¹ de óleo) de $0,097 \pm 0,000$, índice de saponificação (mg KOH g⁻¹ de óleo) de $196,5774 \pm 2,3869$, densidade relativa (a 25 °C) de $0,9201 \pm 0,0015$ kg L⁻¹, massa molar de 856,2 ggmol⁻¹.

Para a definição das variáveis de processo, realizou-se um planejamento experimental 2⁴-1 com dois níveis (-1 e +1) e três pontos centrais, resultando em um total de 11 ensaios. As variáveis estabelecidas foram proporção molar de substrato (etanol e óleo), concentração mássica de enzima (%), temperatura da reação (°C) e quantidade de solvente (hexano, em mL) utilizado na reação. O tempo estabelecido para todas as reações foi fixado em 360 minutos.

As reações de etanólise via enzimática foram conduzidas em uma lavadora ultrassônica (frequência de 40 kHz e potência máxima de 132 kW), com controle da temperatura de reação e sem agitação. Seguiu-se a metodologia descrita por BATISTELLA *et al.* (2012) e POPIOLSKI (2011), onde pesou-se 1 g de óleo de frango em um balão de 100 mL; em seguida, adicionou-se a massa de etanol absoluto na proporção óleo/álcool indicada no planejamento experimental. A quantidade de hexano e enzima adicionados também foram de acordo com o planejamento experimental definido para cada tratamento.

O balão foi imerso em banho de ultrassom com temperatura definida pelo planejamento e o mesmo foi conectado a um sistema de fluxo de condensação a 6 °C. Alíquotas do meio reacional eram coletadas com micropipeta nos tempos zero (antes da adição da enzima) e no decorrer da reação, nos tempos de 15, 30, 60, 120, 180 e 360 minutos.

As alíquotas coletadas foram analisadas por CCD conforme metodologia descrita por CHRISTIE (1982), para a verificação da conversão de triacilgliceróis a ésteres etílicos. A CCD foi escolhida por ser um método analítico rápido, de baixo custo e por fornecer resultados bastante satisfatórios. A fase móvel era composta por uma mistura de hexano, acetato de etila e ácido acético (90:10:0,5 v/v/v). A revelação foi obtida através do uso de iodo sublimado e em câmara com lâmpada UV a 254 nm, sendo que a interpretação dos resultados obtidos na CCD baseou-se na separação das frações lipídicas descritas por Nielsen (2009).

A conversão do óleo de vísceras de frango em ésteres etílicos (EE) é acompanhada através de análise da placa de CCD. Esta técnica permite observar a formação dos ésteres etílicos, indicada pela mancha na parte superior da placa, para o sistema de eluição utilizado, devido à maior afinidade dos ésteres com o eluente. O progresso da reação constatado através da formação de manchas na placa, a qual possibilita a realização da medida e posterior cálculo do R_f para cada

tratamento.

Resultados e discussão

As variáveis dependentes estudadas no planejamento fatorial fracionado 2⁴-1, Fator de Retenção (Rf) dos ésteres etílicos (EE) e triacilgliceróis (TAG), estão apresentados na Tabela 2, com as quantidades de etanol, enzima, hexano e óleo de frango para cada tratamento.

Tabela 1: Planejamento experimental (valores reais e codificados de cada variável) e fator de retenção (Rf) dos ésteres etílicos e dos triacilgliceróis.

Trat.	T (°C)	Proporção molar de óleo/etanol	[E] (% m/m)	Hexano (mL)	Óleo (g)	Etanol (g)	Enzima (g)	Hexano (mL)	Rf EE	Rf TAG
1)	-1 (50)	-1 (1:3)	-1 (5)	-1 (0)	5,0244	0,8294	0,2929	58,04	0,87	0,54
2)	+1 (60)	-1 (1:3)	-1(5)	+1(40)	1,0048	0,1685	0,0605	0,004	0,97	0,35
3)	-1 (50)	+1 (1:9)	-1(5)	+1 (40)	1,0046	0,4910	0,0795	0,008	0,90	0,81
4)	+1 (60)	+1 (1:9)	-1 (5)	-1(0)	5,0159	2,4273	0,03737	74,14	0,90	0,49
5)	-1 (50)	-1 (1:3)	+1 (15)	+1 (40)	1,0156	0,1761	0,1796	0,004	0,60	0,24
6)	+1(60)	-1 (1:3)	+1 (15)	-1 (0)	5,0011	0,8101	0,8712	58,04	0,83	0,65
7)	-1(50)	+1 (1:9)	+1 (15)	-1(0)	5,0195	2,4401	1,1203	74,14	0,95	0,70
8)	+1 (60)	+1 (1:9)	+1(15)	+1(40)	1,0099	0,4913	0,2273	0,008	0,95	0,78
9)	0 (55)	0 (1:6)	0 (10)	0 (20)	1,0074	0,3290	0,1352	0,02	0,98	0,93
10)	0 (55)	0 (1:6)	0 (10)	0 (20)	1,0097	0,3277	0,1382	0,02	0,97	0,83
11)	0 (55)	0 (1:6)	0 (10)	0 (20)	1,0041	0,3287	0,1358	0,02	0,91	0,75

EE: ésteres etílicos. TAG: triacilgliceróis.

A análise qualitativa por CCD permite a separação e a visualização das frações lipídicas de interesse, como ácidos graxos, triacilgliceróis, fosfolípidios e ésteres etílicos (NIELSEN, 2009).

Como pode ser observado na Tabela 01, há variação nos valores de Rf nos diferentes tratamentos propostos no planejamento. Isto pode ser atribuído ao fato de não haver controle das condições ambientais (temperatura, umidade) durante a realização de cada análise. Observa-se que a conversão de triacilgliceróis a ésteres foi incompleta após 360 minutos de reação devido à presença de TAG remanescente na placa de CCD, o que era esperado, tendo em vista o caráter reversível da reação.

Os resultados qualitativos indicaram a conversão incompleta dos triacilgliceróis a ésteres etílicos, via enzimática, nas condições avaliadas. No tratamento 3 a 50°C, utilizando-se 5% (m/m) de lipase e a proporção molar de 1:9 (óleo:etanol), após 6 h de reação, por exemplo, os ésteres etílicos apresentaram Fr de 0,9; enquanto os triacilgliceróis ainda presentes apresentaram Fr de



0,81.

No tratamento do ponto central, a 55°C, utilizando-se 10% (m/m) de lipase e a proporção molar de 1:6 (óleo:etanol), após 6 h de reação, os ésteres etílicos apresentaram Fr de 0,91; enquanto os triacilgliceróis ainda presentes apresentaram Fr de 0,75. Os resultados mostram a potencialidade de obtenção enzimática de ésteres etílicos em ultrassom, nas condições avaliadas.

Conclusão

Com os resultados qualitativos obtidos por CCD, observou-se a formação de ésteres etílicos nos ensaios realizados. Foi possível observar a conversão incompleta de triacilgliceróis (TAGs) a ésteres após 360 minutos de reação. O estudo será concluído mediante a análise dos resultados quantitativos da cromatografia em fase gasosa, realizada na Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

Referências

AOCS. Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society, 2003. Champaign: AOCS Press.

ARAUJO, L. T. C. *Aplicação de Lipases*. 2009. 64p. Monografia (Especialização - Curso de Pós-Graduação Microbiologia) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. Disponível em: <<http://www.microbiologia.icb.ufmg.br/monografias/103.PDF>>. Acesso em: 14 jan. 2015.

AWADALLAK, J. A. *Uso de ultrassom na hidrólise enzimática do óleo de palma: Síntese de diacilglicerol*. 2012. 79p. Dissertação (Mestrado - Curso de Engenharia Química) Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Toledo. Disponível em:

<http://200.201.88.199/portaapos/media/File/eng_quimica/jamal.pdf>. Acesso em: 11 dez. 2014.

BARROS, T. D.; JARDINE, J. G. Agência Embrapa de Informação Tecnológica. Agroenergia: Gordura Animal. Disponível em:

<<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj1om7kf02wyiv802hvm3jholyoom.html>>. Acesso em: 14 fev. 2015.

BATISTELLA et al. Ultrasound-assisted lipase-catalyzed transesterification of soybean oil in organic solvent system. *Ultrasonics Sonochemistry*, v.19, p.452-458, 2012.

CHRISTIE, W.W. *Lipid analysis*. 2nd.ed. Oxford: Pergamon Press, 1982

GOMES, L. F. S. *Potencial de produção de biodiesel a partir de óleo de frango nas cooperativas do oeste do paraná*. 2005. 64p. Dissertação (Mestrado - Curso de Pós Graduação em Engenharia Agrícola) - Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Cascavel. Disponível

em:<http://tede.unioeste.br/tede/tde_busca/arquivo.php?codArquivo=84>. Acesso em: 9 jan. 2015.

**VIII MICTI**Câmpus Santa Rosa do Sul
Mostra Nacional de Iniciação
Científica e Tecnológica Interdisciplinar

NIELSEN, S. S. *Food Analysis*. 4. ed. West Lafayette: Springer, 2009.

POPIOLSKI, A. S. *Otimização do processo de produção enzimática de biodiesel em sistema livre de solvente em banho de ultrassom*. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos). Erechim: URI, 2011. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/2141.pdf>
Acesso em: 25 de fev. 2014 .