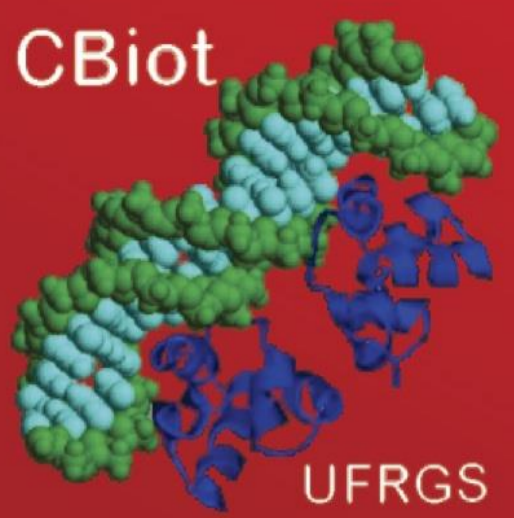


Produção de biodiesel por via enzimática utilizando lipase de *Pseudozyma hubeiensis*



Solon da Rosa¹, Marilene H. Vainstein^{1,2}

¹ Centro de Biotecnologia, UFRGS;

² Departamento de Biologia Molecular e Biotecnologia - Instituto de Biociências, UFRGS.

pro pesq
Pró-Reitoria de Pesquisa - UFRGS

INTRODUÇÃO

Atualmente a demanda energética mundial tem aumentado, assim como a busca por energias renováveis e sustentáveis. Várias alternativas têm sido propostas, englobando diferentes fontes e estratégias, sendo uma delas o uso de biocombustíveis (biodiesel e etanol). Esses são obtidos de fontes renováveis e com baixo potencial poluidor, diferentemente dos combustíveis fósseis. O biodiesel é obtido via reações de transesterificação e/ou esterificação (Fig. 1) de óleos vegetais e gorduras animais com álcool (metanol ou etanol) na presença de catalisadores químicos ou enzimáticos (Nasaruddin et al., 2013).

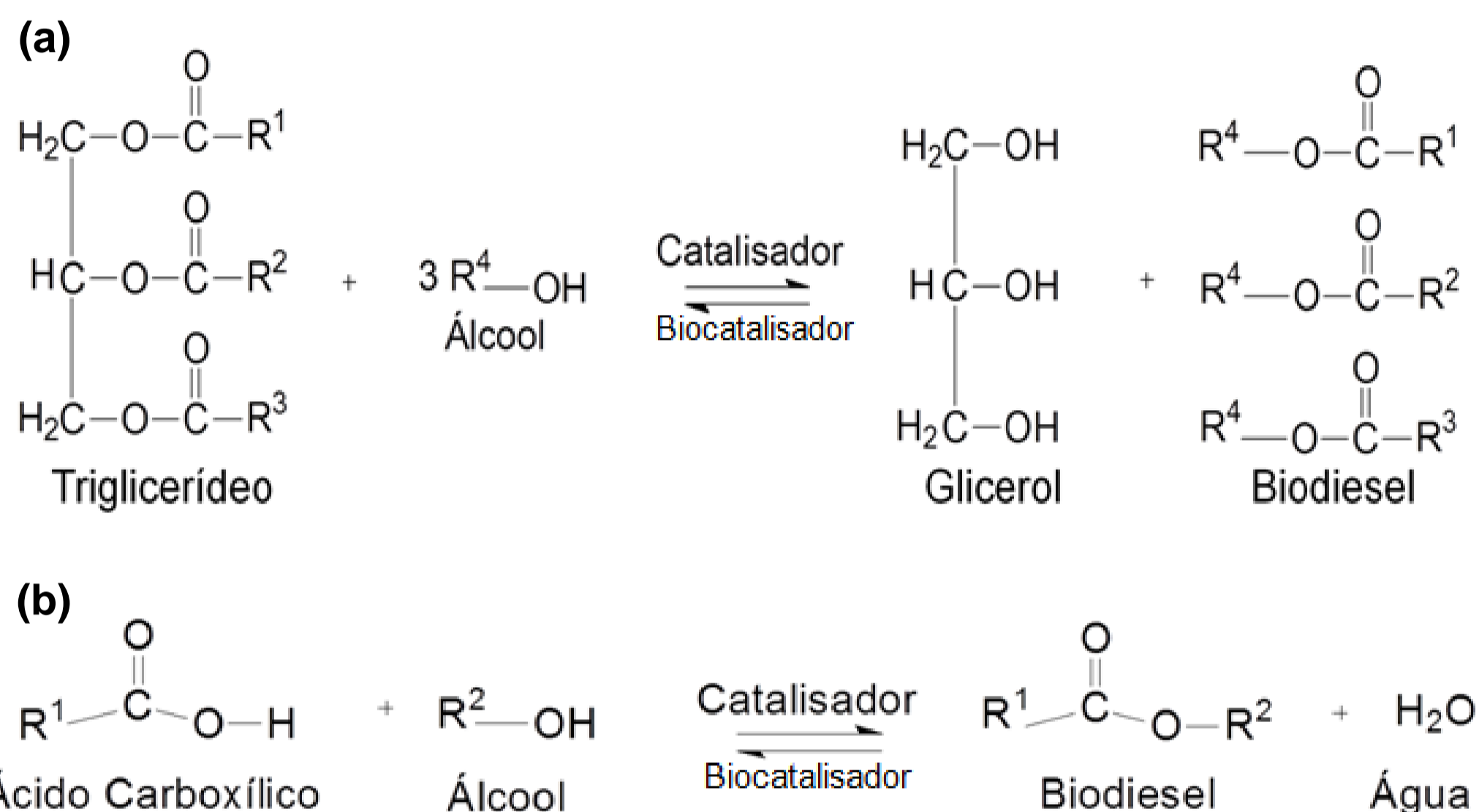


Fig. 1. Reação para a obtenção do biodiesel. (a) transesterificação: R¹, R² e R³ são os ácidos graxos de cadeia longa e R⁴ é o álcool de cadeia curta, resultando em glicerol e biodiesel. (b) Reação de esterificação: R¹ é um ácido graxo de cadeia longa e R² é o álcool de cadeia curta, resultando em biodiesel e água.

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi otimizar a produção de um catalisador enzimático obtido de uma levedura ambiental e utilizá-lo na conversão de biodiesel, determinando os melhores parâmetros reacionais, para torná-lo uma alternativa à produção.

MATERIAIS E MÉTODOS

A lipase utilizada no trabalho foi obtida da levedura *Pseudozyma hubeiensis*. A enzima usada como comparativo foi a comercial purificada Lipase from Porcine Pancreas (Sigma – Aldrich).

Produção da enzima : A enzima foi produzida tanto em plataforma rotacional quanto em biorreator e o produto das duas reações foi recuperado por centrifugação, de acordo com os protocolos estabelecidos por Bussamara et al., (2009). O sobrenadante foi liofilizado e utilizado de três maneiras: com hidratação, diretamente liofilizado (hidratação residual) e seco.

Testes bioquímicos : As proteínas totais foram mensuradas pelo método de Bradford, e analisadas por SDS-PAGE. A atividade enzimática foi avaliada pela transesterificação do éster PNPP com isopropanol, resultando na liberação de paranitrofenol visualizada a absorvância em 410 nm, como estabelecido por Silva et al., (2005), comparada à enzima comercial.

Parâmetros reacionais : A variação dos parâmetros reacionais de concentração da enzima (massa/massa), temperatura, solvência e adição do álcool, bem como razões molares dos mesmos, agitação e tempo de reação foram estudados, com reações ocorrendo em sistema com agitador mecânico e aquecimento, similar a Ebrahimi et al., (2012).

Análises : A análise qualitativa dos produtos de reação foi feita por cromatografia em camada delgada, utilizando os padrões estabelecidos por Soham et al., (2011). A análise quantitativa foi conduzida por cromatografia gasosa com detector por ionização em chama (GC-FID) pelas condições estabelecidas pelo método EN 14103, (2011), determinando os ésteres presentes na amostra.

RESULTADOS E CONCLUSÕES

As análises bioquímicas revelam que a lipase comercial possui uma maior capacidade conversiva frente a testada no estudo; no entanto, diferente da lipase suína, a microbiana não passou por nenhuma etapa de purificação e se revela altamente capaz de promover as reações de esterificação e transesterificação, necessárias à produção de biodiesel. A enzima comercial descrita por Ebrahimi et al., (2012) possui 31 U/mg e a proteína total mensurada foi 17,1 mg/mL. Os dados dos diferentes tratamentos da lipase de *P. hubeiensis* estão descritos abaixo.

Enzima	Conversão (µmol)	Atividade (U/mL)	Proteína total (mg/mL)	Atividade específica (U/mg)
Lipase seca	0,032	11	1,67	6,58
Lipase com hidratação residual	0,059	19,5	3,8	5,13
Lipase com hidratação	0,040	13,33	1,26	10,57

Fig. 2 : Tabela de análise dos dados de atividade enzimática dos diferentes tratamentos da lipase *P. hubeiensis* utilizados no trabalho.

A análise qualitativa dos produtos de reação demonstra haver uma certa conversão, comparando as diferentes enzimas, nos diferentes tratamentos, mesmo essa conversão sendo ainda baixa.

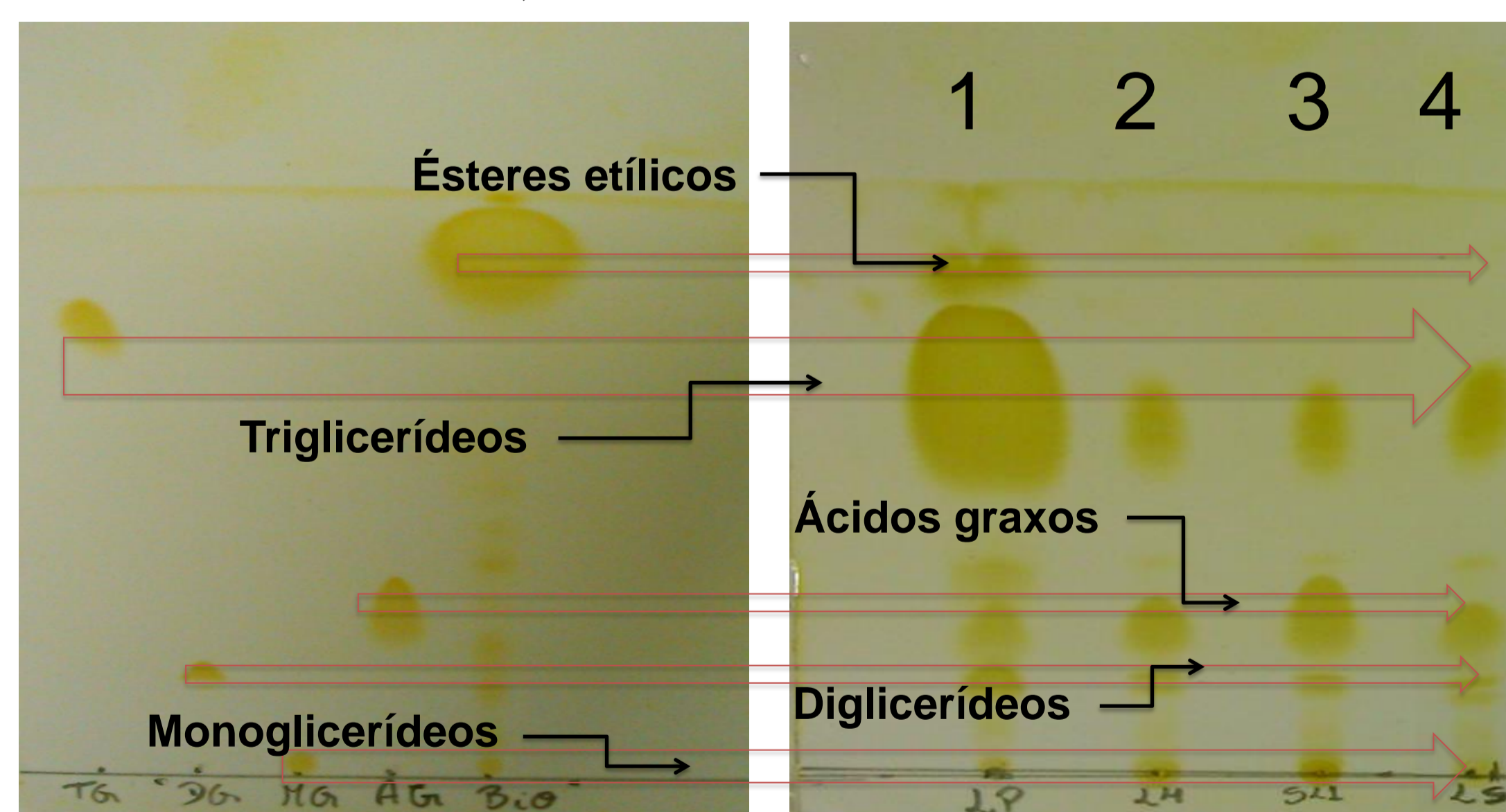


Fig. 3 : Cromatografia de camada delgada comparando os padrões (à esquerda) descritos por Soham, (2012) com os produtos de reação (à direita) das diferentes enzimas e tratamentos, na concentração de 5 % e parâmetros padronizados. À direita, 1- lipase comercial, 2- lipase com hidratação, 3- lipase com hidratação residual e 4 – lipase seca.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Nasaruddin, N, R. R.; Alam, M. Z.; Jami, M. S. Evaluation of solvent system for the enzymatic synthesis of ethanol-based biodiesel from sludge palm oil (SPO). *Bioresour Technol*, 2014.
- Bussamara, R. et al. Isolation of a lipase-secreting yeast for enzyme production in a pilot-plant scale batch fermentation. *Bioresour Technol*, 2010.
- Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*, 1976.
- Silva, W.O.B., Mitidieri, S., Schrank, A., Vainstein, M.H. Production and extraction of an extracellular lipase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Process Biochem*, 2005.
- Ebrahimi, S.; Amini, G.; Younesi, H.; Najafpour, G. D. Production of biodiesel using soybean oil catalyzed by porcine pancreas lipase in a solvent free system. *Middle East Journal of Scientific Research*, 2012.
- Soham & Sen, Ramkrishna. "Fuel properties, engine performance and environmental benefits of biodiesel produced by a green process." *Applied Energy*, Elsevier, Elsevier, 2013.
- EN 14103 – Fat and oil derivatives – Fatty acid methyl esters (FAME). Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents. European Committee for Standardization, 2011.