

## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

### Hidroesterificação de Gordura Abdominal de Frango Catalisada pela Lipase NS-40116.

Jacqueline Rodrigues Pires da Silva<sup>1</sup>, Artur Jacques Nurnberg<sup>1</sup>,  
Felipe Pereira da Costa<sup>1</sup>, Mara Cristina Picoli Zenevich<sup>1</sup>, José Vladimir de Oliveira<sup>1</sup>,  
Débora de Oliveira<sup>1</sup> e Jorge Luiz Ninow<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Santa Catarina – Programa Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos  
CEP: 88040-970 - Florianópolis – SC - E-mail: jacpires@outlook.com

#### RESUMO

*O biodiesel ganhou destaque por ser um combustível biodegradável produzido de fontes renováveis. O presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de ésteres metílicos a partir de gordura abdominal de frango através da reação de hidroesterificação utilizando como catalisador a lipase NS-40116 em diferentes concentrações. Os experimentos foram realizados em shaker (250 rpm à 35 °C). A lipase NS-40116 foi testada nas concentrações de 0,1, 0,3 e 0,7%. As condições experimentais utilizadas foram 100 g de gordura abdominal de frango, 2% (m/m) de água e 1,2 equivalente molar de metanol. As concentrações de lipase NS-40116, 0,7 e 0,3% (m/m) conduziram a conversões próximas durante a avaliação cinética, e seus valores máximos foram atingidos no tempo de 20 horas, 92,45 e 82,16%, respectivamente. Para a produção de ésteres metílicos a partir de gordura abdominal de frango, em sistema livre de solventes tem-se como condições ideais: 0,7% da NS40-116, 2% de água (m/m), 1,2 equivalente molar de metanol à 35 °C.*

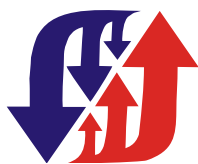
Palavras-chave: Gordura abdominal de frango, lipase NS-40116, hidroesterificação, ésteres metílicos.

#### INTRODUÇÃO

O biodiesel ganhou destaque por ser um combustível biodegradável produzido de fontes renováveis como: óleos vegetais, óleos vegetais residuais, gorduras animais, algas, dentre outros (PRAVEEN, BRAMMER e NOUREDDINI, 2014). A utilização de matérias-primas de baixa qualidade, baixo custo, em abundância, ganhou atenção devido à redução total dos custos de produção dos biocombustíveis.

A gordura abdominal de frango, considerada um subproduto da indústria de alimentos e, muitas vezes tratada como um resíduo é uma matéria-prima que se assemelha com os óleos vegetais por ser composta principalmente pelos ácidos graxos insaturados: palmítico, linoleico e oleico (CHIU e GIOIELLE, 2002).

A produção do biodiesel pode ocorrer através da via química ou enzimática. A via química é um processo barato, entretanto geram resíduos difíceis de ser tratados. A via enzimática é uma alternativa, sua principal barreira é o alto custo do processo e a instabilidade de lipases em solventes orgânicos polares (OLIVEIRA et al., 2010). Apesar das barreiras citadas a utilização das enzimas apresenta vantagens como a reutilização quando elas são imobilizadas e a redução de poluentes sendo considerada uma tecnologia limpa comparada ao uso de catalisadores químicos.



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

As lipases (triacilglicerol hidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas que têm como função a ativação interfacial (WISDSOM, DUNNILL e LILLY, 1984) onde se catalisa a quebra de gorduras e óleos, na interface do substrato insolúvel e da fase aquosa. As lipases podem ser utilizadas nas formas livre ou imobilizada. O uso de lipases livres se mostra atraente pois apresenta um menor custo e rápida velocidade de reação quando comparada com lipases imobilizadas (REN et al., 2011).

A lipase NS-40116 é um caldo enzimático do microrganismo modificado *Thermomyces lanuginosus*, ainda em fase de estudo, será lançada no mercado com um baixo custo quando comparada com as enzimas já existentes, específica para matérias-primas de alto teor de ácidos graxos livres (FFA), possui alta atividade em condições de brandas de processo, e é capaz de realizar reação de hidroesterificação.

A hidroesterificação é um importante processo para a produção do biodiesel tem como vantagem a utilização de matérias-primas de alto teor de ácidos graxos e umidade. A hidroesterificação engloba a reação de hidrólise do óleo vegetal/animal seguida da reação de esterificação a partir dos ácidos graxos gerados da primeira reação e um álcool de cadeia curta produzindo ésteres metílicos/etílicos e água (MACHADO et al., 2015; AGUIEIRA et al., 2104; OLIVEIRA et al., 2011).

O presente estudo teve como objetivo avaliar a produção de ésteres metílicos a partir de gordura abdominal de frango através da reação de hidroesterificação utilizando como catalisador a lipase NS-40116 em diferentes concentrações.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### MATERIAIS

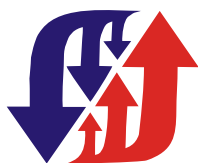
Para a produção de ésteres metílicos foram utilizados a gordura abdominal de frango cedida pela BRF localizada no município de Chapecó-SC, álcool metílico (LAFAN), e a lipase NS-40116 na forma livre, cedida pela Novozymes. Na quantificação dos ésteres foi utilizado o heptano-n 99,5% (VETEC) e heptadecanoato de metila (Sigma-Aldrich). Para a determinação do índice de acidez e da atividade hidrolítica da lipase foram utilizados: álcool etílico absoluto (Synth), éter etílico (Synth), hidróxido de potássio (Lafan), p-nitrofenil palmitato (p-NPP), carbonato de sódio (Lafan) e tampão fosfato de sódio (Lafan).

#### MÉTODOS

Ao final de cada experimento, o meio reacional foi transferido para um tubo Falcon e a amostra foi centrifugada à 6000 rpm por 10 minutos para separar o éster metílico do glicerol, do catalisador e dos substratos que podem não ter sido consumidos totalmente.

#### Quantificação de ésteres

A solução foi injetada (1 µL) em um cromatógrafo gasoso (CG) (Shimadzu 2010), com injetor automático (Split) e detector de ionização de chama (FID). Utilizou-se a coluna capilar Rtx-WAX (30 m x 0,25 mm x 0,25 mm) nas condições cromatográficas descritas pela norma EN 14103 (2003), do Comitê Europeu para Padronizações. A temperatura inicial da coluna foi 120 °C permanecendo por 1 minuto, seguido pelo aquecimento de 15 °C/min até 180 °C permanecendo por 2 minutos, e novamente aquecendo 5 °C/min até 250 °C permanecendo assim por mais 2 minutos. Ar sintético e nitrogênio eram utilizados como gás de arraste e a temperatura do injetor e detector eram 250 °C e a taxa de split de 1:50.

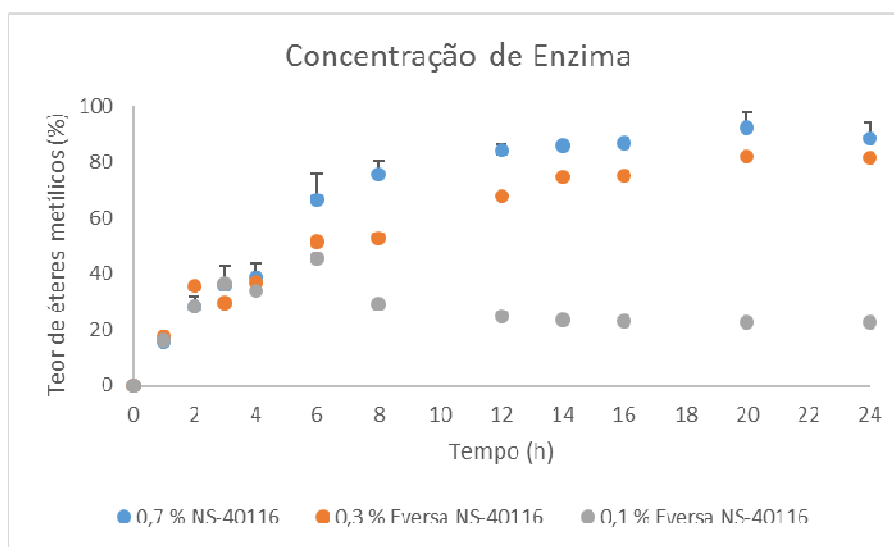


## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

### RESULTADOS E DISCUSSÕES

Diferentes concentrações da lipase NS-40116 foram testadas a fim de reduzir os custos do processo de produção de ésteres metílicos.

Figura 1: Cinética enzimática de hidroesterificação para comparar diferentes concentrações de enzima NS-40116 (0,7 %, 0,3 e 0,1%). Condições experimentais de 2% de água (m/m), 1,2 equivalente molar de metanol à 35 °C; agitação de 250 rpm, em sistema livre de solvente.

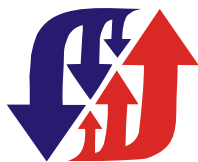


Como pode ser visto na Figura 1 as concentrações de lipase NS-40116 0,7 e 0,3% (m/m) apresentaram valores próximos de conversão ao longo do estudo cinético, e seus valores máximos foram atingidos no tempo de 20 horas, 92,45 e 82,16%, respectivamente. A concentração da lipase NS-40116 de 0,1% (m/m) apresentou valores baixos quando comparados às demais concentrações testadas.

A literatura apresenta poucos trabalhos de produção de biodiesel com catalisadores enzimáticos em sua forma livre devido às dificuldades enfrentadas, como a instabilidade da enzima livre, a recuperação e o reuso da enzima em mais de um ciclo. Nie et al. (2015) estudaram diferentes concentrações da lipase *Candida* sp. 99-125 variando de 0,3 a 1%, e observaram que os melhores resultados foram quando se utilizou as maiores concentrações, entretanto ao utilizar 0,4% da lipase obteve-se a melhor condição, levando em consideração o custo do processo. Price et al. (2016) avaliaram, em planta piloto de 4 m<sup>3</sup>, a concentração da lipase NS-40116 variando de 0,061 - 0,2% (m/m) em um sistema de batelada alimentada para produção de biodiesel. Os autores encontraram os melhores resultados com 0,1% (m/m) de enzima. Ao aumentar a escala da planta piloto para 80 L com 0,1% (m/m) de enzima notou-se que o aumento da vazão de entrada dos reagentes resultou no aumento da velocidade de reação.

### CONCLUSÕES

O maior teor de ésteres metílicos foi obtido em 20 horas na concentração de 0,7% de enzima livre NS-40116 a partir da gordura abdominal de frango utilizando as condições



## XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

experimentais prefixadas de 2% de água (m/m), 1,2 equivalente molar de metanol em sistema livre de solvente, à 35 °C em *shaker*.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguieira, E. C. G.; Oliveira, E. D.; Castro, A. M.; Langonec, M. A. P.; Freire, D. M. G. 2014. Biodiesel production from *Acrocomia aculeata* acid by (enzyme/enzyme) hydroesterification process: Use of vegetable lipase and fermented solid as low-cost biocatalysis. *Fuel* 135: 315-321.
- Chiu, M. C.; Gioielli, L. A. 2002. Consistência da gordura abdominal de frango, de suas estearinas e de suas misturas binárias com toucinho. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences* 38.
- Li, Y.; Du, W.; Dai, L.; Liu, D. 2015. Kinetic study on free lipase NS81006 catalyzed biodiesel production from soybean oil. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 121:22-27.
- Machado G. D.; Souza, T. L.; Aranda, D. A. G.; Pessoa, F. L. P.; Castier, M.; Cabral, V. F.; Cardozo-Filho, L. 2015. Computer simulation of biodiesel production by hydro-esterification. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*.
- Nie, k.; Wang, M.; Zhang, X.; Hu, W.; Liu, L.; Wang, F.; Deng, L.; Tan, T. 2015. Additives improve the enzymatic synthesis of biodiesel from waste oil in a solvent free system. *Fuel* 146: 13-19
- Oliveira, B. H.; Coradi, G. V.; Neto, P. O.; Lima, V. M. G. 2010. Production and characterization of Lipase produced by *Fusarium* SP. And this application of biodiesel.
- Praveen R. M., P. R.; Brammer, S. C., Noureddini, H. 1996. Improved conversion of plant oils and animal fats into biodiesel and co-product. *Bioresource Technology* 56:19-24.
- Price, J.; Nordblad, M.; Martel, H. H.; Chrabas, B.; Wang, H.; Nielsen, P. M.; Woodley, J. M. 2016. Scale-up of industrial biodiesel production to 40m<sup>3</sup> using a liquid lipase formulation. *Biotechnology and Bioengineering*. DOI 10.1002/bit.25936.
- Standard Une - EN 14103. 2003. Fat and oil oil derivatives: Fatty Acid Methyl esters (FAME) – Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents. *Asociación Española de Normalización y Certificación, Madrid*.
- Subhedar, P. B.; Botelho, C.; Ribeiro, A. Castro, R.; Pereira, M. A.; Gogate, P. R.; Paulo, A. C. 2015. Ultrasound intensification suppresses the need of methanol excess during the biodiesel production with Lipozyme TL-IM. *Ultrasonics Sonochemistry* 27:530-535.
- Subhedar, P. B.; Gogate, P. R. 2016. Ultrasound assisted intensification of biodiesel production using enzymatic interesterification. *Ultrasonics Sonochemistry* 29:67-75.
- Wisdom, R. A.; Dunnnill, P.; Lilly, M. D. 1984. Enzymic interesterification of fats: factors influencing the choice of support for immobilized lipase. *Enzyme Microbiology Technology* 6.