

Produção de biodiesel etílico catalisado por lipases presentes nas hifas imobilizadas do fungo termofílico *Rhizomucor pusillus*

Pedro H. Vendramini^{1*} (IC), Thiago H. K. Ohe¹ (PG), Janaína P. Borges¹ (PG), Mauricio Boscolo¹ (PQ), Eleni Gomes¹ (PQ), Roberto da Silva¹ (PQ), João C. Thoméo¹ (PQ), Ana L. Ferrarezi¹ (PQ)

1- Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas (IBILCE/UNESP) – São José do Rio Preto/SP. E-mail: ph_vendramini@yahoo.com.br

Palavras Chave: Fungo termofílico, lipases, catálise enzimática, esterificação, biodiesel, biocombustíveis.

Introdução

As lipases são serino-hidrolases (EC 3.1.1.3) que atuam na hidrólise de ácidos graxos e em reações de síntese^{1,2}. Enzimas termofílicas apresentam alta termoestabilidade e frequentemente se mostram mais resistentes à desnaturação química, sendo amplamente estudadas devido ao seu grande potencial de aplicação tecnológica. A imobilização de enzimas tem sido muito empregada em processos tecnológicos visando maior estabilidade e rendimento das enzimas utilizadas. A imobilização das células dos micro-organismos produtores surgiu no intuito de baratear o custo e facilitar a utilização dessas enzimas como biocatalisadores. O objetivo desse trabalho foi utilizar as lipases presentes nas hifas imobilizadas do fungo termofílico *Rhizomucor pusillus* como biocatalisadores em reações de esterificação na produção de biodiesel etílico derivado de óleo de soja.

Resultados e Discussão

As hifas do fungo *R. pusillus* foram imobilizadas em bucha vegetal (*Luffa aegyptiaca*) por fermentação semi-sólida utilizando um meio indutor contendo óleo de soja e extração do imobilizado foi realizada 72h após a incubação a 45°C e 120 rpm.

As reações de esterificação foram realizadas utilizando uma razão molar de 1:2 (ácido graxo: etanol) e incubadas a 45°C por 40 min. A atividade esterificante foi determinada por titulometria com um pH-STAT (902 Titrand - Metrohm), com uma solução de NaOH padronizada até pH 11. Para cada ácido graxo avaliado foi feito um controle sem os imobilizados e todas as análises foram feitas em triplicata. Para avaliação da viabilidade desse biocatalisador em reações de esterificação foi realizado um estudo das condições da reação por meio de análise estatística usando um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) com 8 ensaios axiais e 7 repetições. Foram avaliados 4 fatores: temperatura, agitação, quantidade de hifas imobilizadas e tipos de ácidos. As hifas de *R. pusillus* imobilizadas apresentaram a razão mássica média de 1,53 g de biomassa/1,00 g de suporte) e atividade de hidrólise de 365 U/g de

suporte. Os resultados obtidos foram analisados pelo software Minitab 15 considerando-se relevantes

Os dados que apresentaram $p < 0,05$. Apenas a variável agitação mostrou significância (0,016). As interações Atividade esterificante / Agitação / temperatura e Atividade / Agitação / Tipo de Ácido apresentaram significância de 0,011 e 0,013; respectivamente. Apresentando atividades de 40-50 e 30-40 (U/g de suporte), respectivamente. Foi possível determinar graficamente as melhores condições de reação (tabela 1).

Tabela 1. Melhores condições de acordo com o DCCR.

Variáveis	Temp. (°C)	Agitação (rpm)	Substrato Catalítico (g)	Tipo de Ácido
Melhores Condições	55 - 60	170 -230	0,75-1,25	C4, C6 e C18:1

Onde os tipos de ácidos C4, C6 e C18:1, representam os ácidos butírico, capríco e oléico respectivamente.

Conclusões

O estudo realizado mostra que a agitação é um fator determinante em reações de esterificação utilizando as hifas imobilizadas de *R. pusillus* como biocatalisador. A atividade esterificante foi maior em altas temperaturas corroborando a estabilidade de lipases termofílicas. Observou-se também maior atuação das enzimas quando se utilizou ácidos graxos de 4, 6 e 18 carbonos. O estudo foi considerado válido e será utilizado como referência para outro estudo semelhante visando avaliação de novos parâmetros para um aumento da atividade esterificante consequentemente aumento o rendimento na produção de ésteres por este biocatalisador. Esse trabalho também mostrou que o biocatalisador utilizado tem um grande potencial biotecnológico especialmente quando se refere a procedimentos que necessitem de temperaturas mais altas.

Agradecimentos

Unesp/CNPq/Fapesp (2008/58077-0).

¹ Jaeger, K. E. e Eggert, T.: *Curr. Opin. Biotechnol.* 2004, 15, 305.

² PARK, E. Y.; PIZARRO, A. V. L.: *Process Biochemistry*, v. 38, p. 1077-1082, 2003.