

Otimização da esterificação do ácido oleico por lipase de *Penicillium roqueforti* cultivado em farelo de cacau.

SILVA, T.P.¹, SANTOS, M.M.O.¹, FERREIRA, A.N.¹., FRANCO, M² PEREIRA, H.J.V.P.¹

¹ Universidade Federal de Alagoas

² Universidade Estadual de Santa Cruz

E-mail para contato do autor apresentador: marta.quimica1@gmail.com

As lipases (triacilglicerol acilidrolases EC 3.1.1.3) são enzimas muito conhecidas por preconizarem reações em interface óleo/água ou em solventes não aquosos, portanto, são biocatalisadores de vasta aplicação industrial, altamente versáteis e eficazes (Sharma et al., 2001). A esterificação realizada por lipases é uma das suas aplicações e trata-se de uma alternativa importante na produção de ésteres que compõem diversos produtos como: bicom bustíveis, aromas, etc. (BAJAJ *et al.*, 2010). Diferentes compostos podem ser empregados como substrato biocatalítico na esterificação, como o ácido oleico por exemplo, e na maioria dos processos relatados na literatura empregam lipases comerciais, com alto grau de pureza e/ou imobilizadas sendo relatadas conversões de até 80-90% (Pang et al., 2016).

Em comparação com a esterificação química, a esterificação enzimática é conduzida sob condições mais amenas (temperatura próxima à ambiente e pH neutro), o éster obtido é facilmente recuperado e purificado e praticamente não há geração de resíduos (Fjerbaek et al., 2009). Adicionalmente, processos enzimáticos industriais podem tornar-se ainda mais vantajosos e viáveis quando se trata de lipases produzidas por fermentação em estado sólido (FES), pois assim, promove-se o emprego de fontes alternativas de energia que podem reduzir o custo do processo e seu impacto ambiental. (BAJAJ et al., 2010).

O objetivo deste estudo foi investigar os efeitos do tempo de agitação e da temperatura sobre a reação de esterificação, utilizando a enzima lipase produzida pela fermentação sólida do farelo de cacau, com o fungo filamentosso *Penicillium roqueforti*. A metodologia de superfície de resposta e o modelo experimental foram utilizados para verificar a influência dos parâmetros (variáveis independentes). A fim de reduzir o número de experimentos, foi usado a matriz Doehlert.

As reações de esterificação foram realizadas em tubos cilíndricos de 10 cm de comprimento e 3 cm de diâmetro com tampa de rosca, selados com Parafilme. O sistema padrão para os testes foi composto por álcool metílico e ácido oleico (6:1), e adição de 1% de enzima purificada em relação à massa dos reagentes. Os frascos foram incubados por diferentes tempos e temperaturas, em banho de óleo, sob agitação de 100 rpm.

Após o tempo de incubação, a solução é colocada em funil de decantação e é lavado com uma solução contendo 20 mL éter – água (1:1), misturando-se lentamente e deixando em repouso para a

separação das fases. Em seguida descarta a fase inferior e a superior deixa sob agitação para evaporação do solvente. A otimização das variáveis independentes (fatores): tempo de reação (t) de 75 a 210 min e temperatura (T) de 17 a 37°C, das reações de esterificação foram analisadas por meio da metodologia de planejamento experimental, com uma matriz de Doehlert contendo 3 pontos centrais e 6 experimentos em diferentes níveis (Tabela 1).

Tabela 1. Designer experimental.

Experimentos	Variáveis		
	Tempo de agitação (min)	Temperatura (°C)	Conversão (%)
1	120 (0)	27 (0)	63,9
2	120 (0)	27 (0)	55,2
3	120 (0)	27 (0)	49,1
4	210 (1)	27 (0)	29,8
5	165 (0,5)	37 (0,866)	0
6	30 (-1)	27 (0)	8,3
7	75 (-0,5)	17 (-0,866)	12,1
8	165 (0,5)	17 (-0,866)	5,3
9	75 (-0,5)	37 (0,866)	1,8

Poucos estudos descrevem a aplicação direta do extrato bruto de lipase em reações de esterificação, um estudo apresentado por Zhong *et al.* 2013 utilizando lipase de *Candida sp.* 99-125 demonstrou uma conversão de 96% de ácido oleico, utilizando a enzima pura livre. Outro estudo de esterificação utilizando lipase de *P. sumatrense* 12 horas apresentou cerca de 70% de conversão, e lipase estudada, em 8 horas de reação já apresentava aproximadamente 90% de conversão (OLIVEIRA *et al.*, 2015).

A enzima lipase em estudo se mostra superior (tabela 1) aos trabalhos já documentados na literatura, uma vez que a mesma é produzida por fermentação em estado sólido, que diminui os custos, além de ser utilizado um microrganismo com classificação GRAS (Generally Recognized as Safe) do FDA (Food and Drug Administration) sendo um processo seguro e que os produtos finais (enzima e substrato fermentado) são perfeitamente possíveis de serem direcionado à alimentação.

PALAVRAS-CHAVE: Esterificação. Lipase. Extrato bruto

REFERÊNCIAS

- BAJAJ A, Lohan P, JHA PN, MEHROTRA R (2010) Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. **J Mol Catat B:Enzym** 62:9-14.
- Fjerbaek, L.; Christensen, K.V.; Norddahl, B. A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 102, n. 5, p. 1298-1315, 2009.
- SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U. C. Production, purification, characterization and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 19, n. 8, p. 627-662, 2001.
- Zhong, H, Zheng , F., Zoub, B., Li, X. , Ouyanga,P., Guoa,K., Studies on the lipase-catalyzed esterification of alkyl oleates in solvent-free systems. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic** 90 (2013) 114–117.