

# INFLUÊNCIA DE DIFERENTES VARIÁVEIS AO LONGO DA SÍNTESE ENZIMÁTICA DO BUTIRATO DE ISOAMILA APROVEITANDO ÓLEO FÚSEL

HUERTA, K.M.; OLIVEIRA, J.M.G.; BURKERT, J.F.M.

Laboratório de Análise Sensorial, Universidade Federal do Rio Grande, FURG, Rua Eng. Alfredo Huch, 475, Rio Grande, RS, 96201-900

## Introdução

Ésteres sintetizados biotecnologicamente com ácidos graxos de cadeia curta em reações enzimáticas podem ser considerados naturais, sendo de importante relevância para as indústrias alimentícias (NOGALES; CONTRERAS, 2005).

O óleo fúsel é um co-produto da indústria alcooleira que em função de sua composição pode ser melhor aproveitado. O álcool isoamílico, um dos maiores componentes do óleo fúsel, juntamente com o ácido butírico dá origem ao éster butirato de isoamila, principal componente do aroma de pêra.

O objetivo deste trabalho foi avaliar algumas variáveis na síntese enzimática do butirato de isoamila, utilizando a lipase microbiana comercial imobilizada lipozyme TL IM, ácido butírico e o álcool isoamílico proveniente da destilação fracionada do óleo fúsel. Foram avaliados os incrementos da temperatura (T), da concentração de enzima (E), da concentração de substrato ácido (S) e da razão molar (RM) nas respostas máximas da concentração de éster, produtividade e percentual de esterificação.

## Metodologia

Um planejamento fatorial  $2^4$ , com 28 ensaios, foi realizado para avaliar a influência das variáveis independentes T, E, S e RM nas respostas máximas da concentração de éster, produtividade e percentual de esterificação.

As reações de esterificação foram realizadas em reatores de vidro fechados e selados de 100 mL, contendo 40 mL. O sistema de reação foi composto pelo ácido, álcool e enzima em solvente orgânico. Os frascos foram incubados a 180 rpm e temperatura segundo o planejamento. Foram recolhidas alíquotas em tempos pré-determinados até 24 h de síntese, determinando-se a porcentagem de esterificação através do método titulométrico (ANCHAU.A. *et al.*, 2007).

## Resultados e Discussão

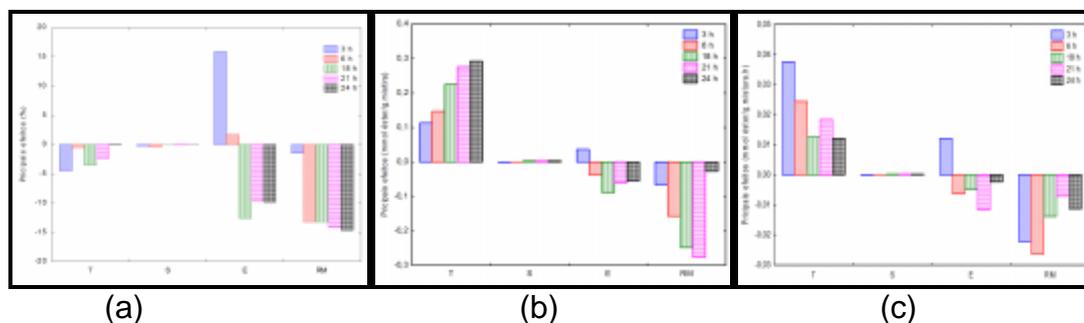
A Tabela 1 apresenta a matriz do planejamento experimental  $2^4$  e as respostas máximas para o percentual de esterificação, concentração de éster e produtividade. Os máximos obtidos foram no ensaio 2 95,8% de esterificação em 24 h, a concentração de éster foi 1,64 mmol/g.mistura no ensaio 8 no mesmo tempo reacional e a produtividade 0,19 mmol/g.mistura.h em 3 h no ensaio 18.

**Tabela 1: Planejamento experimental codificado (valores reais) e as máximas respostas de percentual de esterificação, concentração de éster e produtividade.**

Ensaio	T (°C)	S (M)	E (g/L)	RM(álcool:ácido)	Esterificação (%)	Conc. de Ester (mmol/gmistura)	Produtividade (mmol/gmistura.h)
1	-1(35)	-1(0,4)	-1(11,25)	-1(2:1)	78,7	0,50	0,06
2	+1(45)	-1(0,4)	-1(11,25)	-1(2:1)	95,8	0,70	0,12
3	-1(35)	+1(1,0)	-1(11,25)	-1(2:1)	93,4	0,58	0,06
4	+1(45)	+1(1,0)	-1(11,25)	-1(2:1)	14,2	0,26	0,01
5	-1(35)	-1(0,4)	+1(23,75)	-1(2:1)	94,1	0,35	0,11
6	+1(45)	-1(0,4)	+1(23,75)	-1(2:1)	94,9	0,74	0,19
7	-1(35)	+1(1,0)	+1(23,75)	-1(2:1)	94,8	1,12	0,08
8	+1(45)	+1(1,0)	+1(23,75)	-1(2:1)	92,7	1,64	0,08
9	-1(35)	-1(0,4)	-1(11,25)	+1(4:1)	92,5	0,27	0,06
10	+1(45)	-1(0,4)	-1(11,25)	+1(4:1)	92,8	0,72	0,05
11	-1(35)	+1(1,0)	-1(11,25)	+1(4:1)	39,8	0,38	0,02
12	+1(45)	+1(1,0)	-1(11,25)	+1(4:1)	9,7	0,17	0,02
13	-1(35)	-1(0,4)	+1(23,75)	+1(4:1)	90,5	0,30	0,10
14	+1(45)	-1(0,4)	+1(23,75)	+1(4:1)	92,7	0,69	0,11
15	-1(35)	+1(1,0)	+1(23,75)	+1(4:1)	90,2	0,79	0,05
16	+1(45)	+1(1,0)	+1(23,75)	+1(4:1)	44,9	0,78	0,03
17	-2(30)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	93,2	1,13	0,06
18	2(50)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	93,2	1,08	0,20
19	0(40)	-2(0,1)	0(17,5)	0(3:1)	93,2	0,15	0,05
20	0(40)	+2(1,3)	0(17,5)	0(3:1)	30,9	0,57	0,03
21	0(40)	0(0,7)	-2(5)	0(3:1)	39	0,31	0,05
22	0(40)	0(0,7)	+2(30)	0(3:1)	90,8	0,69	0,16
23	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	-2(1:1)	90,9	0,94	0,09
24	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	+2(5:1)	90,6	0,44	0,03
25	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	92,4	0,55	0,06
26	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	92,3	0,42	0,07
27	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	92,2	0,80	0,05
28	0(40)	0(0,7)	0(17,5)	0(3:1)	92,4	0,56	0,08

A Figura 1 apresenta os efeitos principais no percentual máximo de esterificação, concentração de éster e produtividade ao longo da síntese enzimática.

**Figura 1: Efeitos principais na máxima esterificação (a), Concentração de éster (b) e produtividade (c) ao longo da síntese do butirato de isoamila.**



O efeito do incremento do nível inferior (-1) para o nível superior (+1) na temperatura, concentração de substrato e razão molar diminuíram o percentual de esterificação ao longo da síntese sendo significativo a partir das 18 h ( $p < 0,05$ ). O efeito positivo na concentração de enzima foi até 6 h, apresentando inversão a partir das 18 h diminuindo a esterificação (Figura 1a).

O aumento na temperatura apresentou efeito positivo ( $p < 0,05$ ) na concentração de éster somente na máxima concentração de cada ensaio. O aumento na concentração de substrato não influenciou a concentração do butirato de isoamila. O aumento na concentração de enzima 11,25 para 23,75 g/L a partir das 6 h diminuiu a concentração de éster. O incremento na razão molar do nível -1(2:1) para o nível +1(4:1) diminuiu a concentração de éster ao longo de toda a síntese, sendo significativo somente na máxima concentração ( $p < 0,1$ ) (Figura 1b).

Na Figura 1c o incremento na razão molar diminuiu a produtividade ao longo de toda a síntese sendo significativo somente na máxima produtividade ( $p < 0,05$ ). Ao aumentar a temperatura de 35 para 45°C houve um aumento na produtividade ao longo da síntese sendo significativo somente as 21 h e na máxima produtividade ( $p < 0,05$ ). Na passagem do nível inferior para o nível superior a concentração de substrato aumentou a produtividade, porém não foi significativo, efeito contrário e não significativo ocorreu para o aumento de 11,5 para 23,75 g/L de enzima.

## Conclusões

Na síntese do butirato de isoamila aproveitando álcool isoamilico proveniente do co-produto industrial óleo fúsel, foram alcançados 95,8% de esterificação em 24 h, concentração de éster de 1,6423mmol/g.mistura em 24 h e produtividade de 0,1987mmol/g.mistura.h em 3 h sob condições de reação diferenciadas, onde o incremento na concentração de substrato foi a variável que menos influenciou na síntese.

## Referências

NOGALES, J.M.R., CONTRERAS, E.R.E. Biosynthesis of ethyl butyrate using immobilized lipase : a statistical approach, *Process Biochemistry*, 40, 63-68, 2005.  
DÖRM , K; BÉLAFI-BAKÓ, K; BARTHA, L.; EHRENSTEIN, U.; GUBICZA, L. Manufacture of an environmental-safe biolubricant from fusel oil by enzymatic

esterification in solvent-free system. Biochemical engineering journal. V. 21, p. 229-234, 2004.

ANCHAU.A., PORCIÚNCULA.B.A., THIESEN.C.B.Z., ARAGÃO.C.V.. Síntese do componente de aroma frutal butirato de isoamila utilizando lipase microbiana. EA/FURG, Rio Grande-RS (Trabalho de conclusão de curso), 2007.