

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE A UTILIZAÇÃO DE LIPASES FÚNGICAS COMO BIOCATALISADORES NA SÍNTESE DE ÉSTERES.

Suzane Maria Spiel¹, Carlos Eduardo Delay².

1 Acadêmica do curso de Tecnologia em Bioprocessos e Biotecnologia da Universidade Tuiuti do Paraná (Curitiba, PR);

2 Químico, Prof. Dr. da Universidade Tuiuti do Paraná.

Endereço para correspondência é o do orientador: Prof. Dr. Carlos Eduardo Delay carlos.delay@gmail.com

RESUMO

O objetivo desse trabalho é estudar as lipases fúngicas como biocatalizadores na síntese de ésteres. Essas enzimas estão sendo de grande importância em diversas áreas, representando uma perspectiva muito grande para obtenção de vários produtos, sendo elas encontradas facilmente, seja de tecidos de animais, plantas e de microorganismos. As lipases de origem microbiana são as mais estudadas atualmente, pois há um grande interesse na sua aplicação devido as suas próprias características. As enzimas possuem suas vantagens e desvantagens. Outros estudos sobre as lipases é a aplicação para a obtenção do Biodiesel visando o menor impacto ambiental, diminuindo o teor de SO₂, CO₂, CO e não destruindo a camada de ozônio.

ABSTRACT

The aim of this work is to study the fungal lipases as biocatalysts in ester synthesis. These enzymes are of great importance in several areas, representing a great prospect for obtaining various products, which were easily found, or tissues of animals, plants and microorganisms. Lipases of microbial origin are currently the most studied, because there is great interest in its application due to its own characteristics. The enzymes have their advantages and disadvantages. Other studies on lipases is the application for the issue of Biodiesel intended to lower environmental impact, reducing the amount of SO₂, CO₂, CO and not destroying the ozone layer.

INTRODUÇÃO

As lipases tem sido de grande importância na área biotecnologica, econômica e industrial. Essas enzimas são utilizadas como ferramentas tecnológicas, representando uma perspectiva de desenvolvimento nos processos para a obtenção de vários produtos (*CARVALHO et al., 2003*).

Elas podem ser produzidas em tecidos de animais, plantas e também produzidas por fermentação usando várias espécies de microorganismos. Elas são classificadas como hidrolases e atuam sobre ligações estéres presentes em acilgliceróis liberando ácidos graxos e glicerol, possuem a habilidade de catalisar reações de esterificação e transesterificação.

Na área da Biotecnologia tem mostrado grande interesse nas lipases de origem microbiana, sendo essa as mais estudadas atualmente. Este interesse é devido as características próprias das enzimas, principalmente na aplicação industrial como na indústria de cosméticos, alimentos, detergentes e na produção do biodiesel (*ALVES et al., 2002*). A Biotecnologia vem sendo considerada para a produção de ésteres muito importante sendo que estes podem ser obtidos por três técnicas: extração de fontes naturais, sínteses químicas e enzimáticas. Vários estudos tem demonstrado a obtenção de ésteres sintetizados com altos rendimentos utilizando diversas lipases microbianas. Outros estudos sobre a aplicação de lipases que vem aumentando muito nos últimos anos é a aplicação para a obtenção do biodiesel, tudo isso se deve a escassez do petróleo e do menor impacto ambiental provocado pelos biocombustíveis, graças ao estilo de vida saudável que vem sendo adotado por um número cada vez maiores de pessoas (*LEE et al., 2002*).

O objetivo deste trabalho é analisar a utilização de lipases fúngicas como biocatalizadores na síntese de ésteres.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esta pesquisa foi realizada por revisão bibliográfica do ano de 2002 à 2010, utilizando de sites, artigos científicos, revistas e dissertações sobre o tema.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1. Definição de Lipases:

As enzimas são classificadas e codificadas pela NC-IUBMB (Nomenclature Committee of the International Union and Molecular Biology) de acordo com a reação catalisada. A nomenclatura utiliza a abreviação E.C (Enzyme Commission) seguida de até 4 dígitos referentes à classe e subclasse a que pertence a enzima. Lipase é o nome genérico para um grupo de enzimas pertencentes à classe das hidrolases (triacilglicerol éster hidrolases, EC

3.1.1.3) são enzimas que catalizam a quebra de gorduras e óleos liberando ácidos graxos, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. Além disso, elas são também eficientes em várias reações tais como esterificação, transesterificação e interesterificação em solventes orgânicos (*OLIVEIRA et al., 2007*). Estas enzimas são encontradas em tecidos animais, vegetais e em microorganismos. As lipases são originárias de um grande número de bactérias, fungos, plantas e animais, tendo suas propriedades variáveis de acordo com sua procedência. Entre as lipases as fontes fúngicas têm sido preferencialmente utilizadas, não devido as suas melhores características em relação as demais, mas sim porque na sua grande maioria não são nocivas à saúde humana. Em particular, são enzimas que ocupam um lugar de destaque entre os biocatalisadores e possuem muitas aplicações, motivo este que faz crescer significativamente sua participação no mercado mundial de enzimas industriais (*HASAN et al., 2006*).

2. Aplicações de Lipases nas indústrias:

As lipases têm encontrado um vasto campo de atuação nas indústrias, sendo utilizada em diversas aplicações como no processamento de óleos e gorduras, formulação de detergentes, processamento de alimentos, nos processos de síntese usados pela indústria de química fina e farmacêutica, manufatura de papel, produção de cosméticos, na indústria de combustíveis na modificação de ésteres e no tratamento de efluentes.

O uso das lipases nas indústrias permite o desenvolvimento de processos tecnológicos muito próximos aos eficientes executados pela natureza, é um importante grupo de enzimas com valor biotecnológico por possuir facilidade de produção em larga escala.

Na indústria de alimentos as lipases são utilizadas para modificar o sabor pela síntese dos ésteres, dos ácidos graxos e álcool de cadeias curtas, que são os compostos básicos do sabor e aroma. São utilizadas também para a produção de margarina com reduzido teor calórico, além de atuarem no processo de fermentação para diversos alimentos.

As lipases são utilizadas nos processos de tratamentos de efluentes, onde as finas camadas de gorduras devem ser continuamente removidas da superfície dos tanques para permitir a transferência de oxigênio, tal fato é importante também em muitas outras operações como a degradação de restos orgânicos, tratamento de efluentes, limpeza de tanques e outros (*HASAN et al., 2006*).

Na indústria de detergentes a utilização das lipases é importante sendo responsável pela remoção de manchas de gorduras tais como frituras, manteigas, azeites, molhos e outros. Além disso, tornam o produto biodegradável, não deixando nenhum resíduo prejudicial, não

tendo impacto negativo no processo de tratamento e não apresentando riscos ao meio ambiente.

3. Ésteres e Biocatalisadores:

Os ésteres são considerados uma das classes mais importantes de compostos orgânicos e podem ser obtidos através de diferentes formas, através de fontes naturais, por destilação e extração com solventes adequados, catálise química e mais recentemente por biocatálise. A síntese de ésteres por lipases pode ser realizada por meio de reações de esterificação, interesterificação ou transesterificação. A síntese de ésteres etílicos ou metílicos pode ser classificada como química ou enzimática de acordo com o tipo de catalisador empregado.

Os biocatalisadores são amplamente utilizados em diversos processos seja em escala industrial ou laboratorial. São catalisadores fisicamente confinados ou localizados em uma região definida do espaço, com retenção de suas atividades catalíticas e que podem ser utilizados continuamente ou repetidas, com suas vantagens e desvantagens, reduzindo ou não os custos de produção. Como biocatalisadores as lipases apresentam importantes vantagens sobre os catalisadores industriais devido as suas características próprias (*CARVALHO et al., 2006*).

4. Biodiesel:

O Biodiesel é um combustível renovável, produzido pela transesterificação de ácidos graxos presentes entre óleos vegetais ou gordura animal e alcoóis de cadeia curta, normalmente metanol ou etanol, com co-produção da glicerina. A aplicação de lipases para a obtenção de Biodiesel tem aumento muito nos últimos anos. O interesse em obter combustíveis alternativos é consequência da escassez de petróleo e do menor impacto ambiental provocado pelos biocombustíveis. O biodiesel é formado pelos ésteres monoalcil de óleos e gorduras e podem ser utilizados como misturas com os combustíveis derivados de petróleo, o diesel. Sabendo que várias matérias-primas para a obtenção do biodiesel é rica em gorduras e óleos as lipases catalisam certas reações e ganham uma notável importância tecnológica, social e econômica (*LEE et al., 2002*). Uma das aplicações das reações de transesterificação catalisadas por lipases está relacionada com a síntese de ésteres etílicos e metílicos que podem ser aplicados como biodiesel.

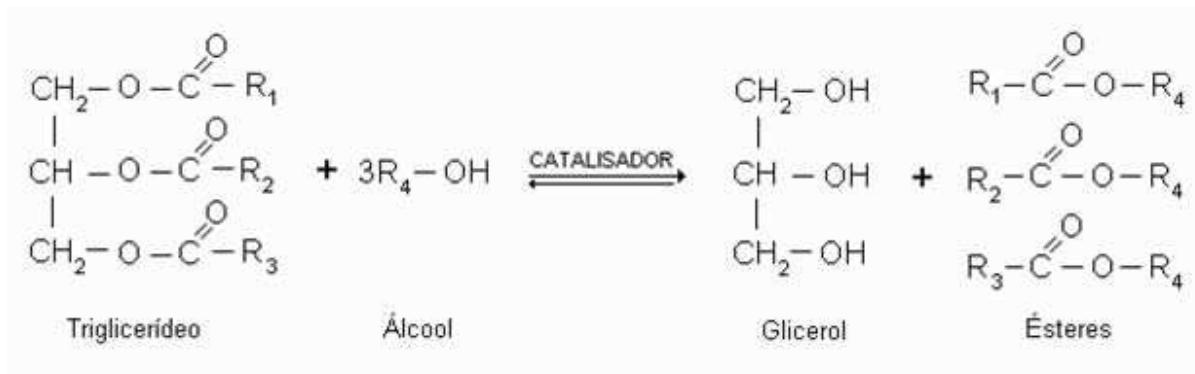


Figura 1. Esquema resumido da produção do Biodiesel:

5. Catálise Alcalina para Obtenção do Biodiesel:

Um processo utilizado na indústria para a obtenção do Biodiesel é através de catálise alcalina utilizando Hidróxido de Sódio como catalisador, esse processo requer passos adicionais de neutralização e lavagem para redução de teor de substâncias indesejáveis no Biodiesel pronto, além de não permitir a recuperação do catalisador utilizado.

6. Catálise Enzimática para a produção do Biodiesel:

Para contornar esses problemas entre os processos testados está a utilização de enzimas, mais precisamente as lipases que é um dos mais promissores na produção do biodiesel por transesterificação, com isso abole a necessidade de neutralização e lavagem do Biodiesel, além de facilitar a recuperação da glicerina. A produção do Biodiesel utilizando enzimas ocorre em velocidade consideravelmente menor que a catálise química. Isso leva a necessidade do uso de grandes quantidades de catalisadores, o que acaba por encarecer o processo. Uma vez identificados os limitantes no processo biocatalíticos, esse método deverá ser uma alternativa viável na cadeia produtiva do biodiesel, uma vez que as enzimas são catalisadores muito mais específicas que os catalisadores químicos e, portanto promovem maior facilidade nas etapas de purificação do produto.

Para a obtenção de biodiesel por catálise enzimática alguns fatores devem ser levados em consideração como: origem da enzima, quantidade de enzima, razão molar entre os reagentes óleo e álcool, tipo de álcool, uso de solventes orgânicos na reação, temperatura da reação, quantidade de água adicionada e reuso da enzima.

Segue tabela com as vantagens e desvantagens dos processos químicos e enzimáticos na produção de Biodiesel (*NETO et al, 2002*):

Processos	Vantagens	Desvantagens
<u>Químicos</u>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Simplicidade ✓ Alto rendimento ✓ Curto tempo de reação 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Dificuldade de separação do catalisador ✓ Impossibilidade de reutilização do catalisador ✓ Obtenção de produto com menor grau de pureza
<u>Enzimático</u>	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Facilidade de separação do catalisador ✓ Obtenção de produtos com maior grau de pureza 	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Longo tempo de reação ✓ Custo das enzimas

CONCLUSÃO

Foi realizado uma revisão bibliográfica de literatura do ano de 2002 à 2010 e concluiu-se que as lipases estão sendo de grande importância em diversas áreas, principalmente na indústria onde é aplicada para a obtenção de diversos produtos. Há um grande número de pesquisas sobre as lipases com o objetivo de melhorar sua aplicação, seja na parte industrial ou econômica, com a vantagem de ser encontrada facilmente, seja em tecidos de animais, vegetais ou em microorganismos. Outras pesquisas que estão sendo realizadas é para a obtenção do Biodiesel, atualmente a procura por combustíveis renováveis tem aumentado muito. Assim sendo, o biodiesel surge como uma alternativa em relação ao petróleo e seus derivados, já que sua produção é mais barata e a emissão de poluentes diminui muito, além de ser uma energia renovável. Devido a escassez do petróleo e a poluição causada pelos biocombustíveis, estão pesquisando os melhores métodos para essa obtenção seja pelo processo químico ou enzimático com o objetivo de tornar o biodiesel com uma qualidade cada vez melhor e assim reduzindo os impactos ambientais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES, M.H; CAMPOS – TAKAKI, G.M ;PORTO, A.L.F; MILANEZ; A.I. **Screening of mucor spp. For production of amylase, lipase, polygalacturonase and protease.** Brazilian Journal of Microbiology, 2002.

BOUAID, A.; APARICIA, I.; MARTINEZ, M; ARACIL. JOSÉ. **Synthesis of a green biosolvent: isopropyl esteres. A statistical approach enzyme microb.** Technol. V.41; n.4, p 533 – 538, 2007.

CARVALHO, P.O; OLIVEIRA, J.G; **Aplicação de lipases microbiana na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados,** química nova v.26, 2003.

CARVALHO, W; CANILHA, L. **Uso de biocatalizadores imobilizados: uma alternativa para a condução de bioprocessos.** Lorena, S.P, 2006. 12 f. Artigo da revista analytica junho, julho 2006, nº 23 – Faculdade de Engenharia Química de Lorena, departamento de Biotecnologia.

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. **Modificações de óleos e gorduras por biotransformação.** Química Nova, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

DOMINGUEZ, A., COSTAS, M LONGO,M.A.; SANROMÁN,A.A **Novel application of solid culture; production of lipases by garrowia lipolytica.** Biotechnology letters, v.25, p.1225 – 1229, 2003.

FARIA, L.M, **Hidrólise do óleo da amêndoa da macaúba com lipase extracelular de Colletotrichum Gloesporioides produzida por fermentação em substrato líquido.** Belo Horizonte, 2010. 147 f. Tese (mestrado em ciências de alimentos). Setor de Ciências de Alimentos – Universidade de Minas Gerais.

FEITOSA, C. **Produção de enzima lipolíticas utilizando bactéria isolada de solo com história de contato com petróleo em fermentação submersa.** Aracaju, 2009. 130 f. Tese (mestrado em engenharia de processos) – Setor Engenharia de Processos, Universidade Tiradentes.

FERNANDES, M.L.M. **Produção de lipases por fermentação no estado sólido e sua utilização em biocatálise**. Curitiba, 2007. 131 f. Tese (Doutorado em Química Orgânica) – Setor de Ciências Exatas, Universidade Federal do Paraná.

GÜVENÇA, A.; KAPUCU, N.; MEHMETOGLU, U. **The production of isoamyl acetate using immobilized lipases in a solvent-free system**. *Process Biochem.*, v. 38, p. 379-386, 2002.

JAEGER, K.E.; REETZ, M. **Microbial lipases from versatile tools for biotechnology**. *Tibtech*, v. 16, p. 396 – 403, 1998.

JÚNIOR, A.C. **Imobilização de lipases para obtenção de Biodiesel por transesterificação do óleo de mamona**. Florianópolis, 2007. 122 f. Tese (mestrado em Engenharia Química) – Setor de Engenharia Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

HASAN, F., SHAH, A.A; HAMEED, A. **Industrial applications of microbial lipases**. *Enzyme and microbial technology*, v.39, p. 235 – 251, 2006.

LEE, K; FOGLIA, T.A. **Production of alkyl ester as biodiesel from fractionated lard and restaurant grease**. V79 p. 191-195, 2002.

LU, J.Y.; LISKA, B.J. **Lipase from *Pseudomonas fragi***. *Appl. Microbiol.*, v. 18, p. 108-113, 1969.

NETO, P.R.C. **Obtenção de ésteres alquílicos (biodiesel) por via enzimática a partir do óleo de soja**. Florianópolis, 2002. 133 f. Tese (Doutorado em Química) – Setor de Química, Universidade Federal de Santa Catarina.

OLIVEIRA, M.A. **Resolução enzimática de álcoois secundários**. Curitiba, 2007. 127 f. Tese (mestrado em Química Orgânica) – Setor de Ciências exatas, Universidade Federal do Paraná.

OLIVEIRA, D.T.M, **Lipase extracelular de fungos filamentosos: isolamento e caracterização parciais**. Belo Horizonte, 2008. 152 f. Tese (Mestrado em Ciências de alimentos) Faculdade de Farmácia da UFMG.

KRISHNA, S.H. **Developments and trends in enzyme catalysis in nonconventional media.** *Biotechnology Advances.*, 20, p. 239–267, 2002.

SAAD, E.B. **Etanolise do óleo de milho empregando catalisadores alcalinos e enzimáticos.** Curitiba, 2005. 115 f . Tese (mestrado em Química Orgânica) – Setor de Ciências Exatas , Universidade Federal do Paraná.

SEBRÃO, D.; SILVA, V.D.; NASCIMENTO, M.G.; MOREIRA, M.A. **Imobilização de lipases em filme de caseinato de sódio/glicerol: aplicação na síntese de ésteres.** *Química Nova*, v. 30, n. 5, p. 1182-1187, 2007.

SALUM, T.F.C. **Produção e imobilização de lipase para a síntese de ésteres etílicos.** Curitiba, 2010. 127 f. Tese (Doutorado em Ciências - Bioquímica) – Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.