

**SIMULAÇÃO COMPUTACIONAL DA EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO
FRACIONADA DE ENZIMAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL
COMPUTER SIMULATION OF LIQUID-LIQUID EXTRACTION OF ENZYMES
FRACTIONATED TO PRODUCE BIODIESEL**

AYLAN KENER MENEZHINE¹; LEONARDO HADLICH DE OLIVEIRA²; ELIAS DE SOUZA MONTEIRO FILHO³

¹ FCAV/Unesp – Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, SP; ² UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas; ³ UFSJ – Universidade Federal de São João Del Rei, campus Sete Lagoas, MG. E-mail contato: aylan@posgrad.fcv.unesp.br

Abstract

Liquid-liquid extraction is utilized for purification of biomolecules by Aqueous Biphasic Systems (ABS), since this process does not damage the biotechnological potential of these compounds. In this work, using the free software Scilab®, the fractionated liquid-liquid extraction was studied aiming a lipase (target enzyme) partition in a water + PEG + DEX system. Lisozyme was considered as contaminant. As computer simulations has been extensively used when a first estimation of technical feasibility of process is desired, this work demonstrated that the system is viable for recovery the 80 % till 90 % the target enzyme, but should be noted that the trial aimed only the fractionation of the enzyme target of a contaminant, not its concentration, which should be done by another process.

Keywords: Lipase. Transesterification.

Introdução

A extração líquido-líquido (ou extração líquida) é uma técnica usada quando se deseja remover de uma mistura líquida, um ou mais componentes através do contato direto com outro líquido que é imiscível com a mistura original e remove parcialmente os componentes desejados desta mistura. Pode ser um método de separação contínuo (útil quando a diferença de solubilidade do soluto em ambos os solventes não é muito grande) ou descontínuo (indicada quando existe uma grande diferença de solubilidade do soluto nos dois solventes).

Os Sistemas Aquosos Bifásicos (SAB), desde a época em que foi feita a primeira menção de seu uso em meados da década de 1950, têm sido aplicados à purificação de proteínas, produtos obtidos em células animais, vegetais e microbianas, extração de vírus, organelas e ácidos nucleicos, destacando-se a aplicação na purificação de enzimas (HASMANN et al., 2009). Sua principal vantagem é a grande quantidade de água em ambas as fases, significando que a molécula a ser particionada terá potencialmente água livre suficiente para solvatar-se e interagir fracamente com outras moléculas, o que poderia causar

a perda de suas características de interesse, no caso de concentrações menores de água (MONTEIRO FILHO, 2009).

Recentemente, a transesterificação usando lipase está ficando mais atrativa, pois o glicerol produzido como subproduto pode ser facilmente recuperado e o processo de purificação dos etilésteres é mais simples de ser realizado (SILVA et al., 2006). A produção de biodiesel usando lipases elimina as desvantagens do processo alcalino através da síntese de um produto com alto grau de pureza, e com pouca ou nenhuma operação de refino, a inexistência de rejeito aquoso alcalino, menor produção de outros contaminantes, maior seletividade e bons rendimentos. A principal desvantagem do uso de enzimas puras (lipases) nessa metodologia é o alto custo das mesmas.

Através de uma simulação computacional, este trabalho tem como objetivo mostrar um algoritmo, em software adequado, da produção contínua da enzima em estudo, de acordo com dados fornecidos em literatura.

Material e Métodos

Montou-se um algoritmo, no software Scilab/Scicos[®] versão 5.2.2, baseado no desejo de se obter lipase pura, porém considerou-se uma contaminação com lisozima. Portanto, as duas devem ser separadas, levando em consideração que a enzima desejada é a lipase, então ela deve estar mais purificada e concentrada.

O algoritmo do programa para cálculo do número de estágios ideais para separação de dois compostos foi feito com base nos coeficientes de distribuição entre fases distintas do sistema, de acordo com dados obtidos em literatura (MADEIRA et. al, 2008), conforme ilustra a Tabela 1.

Tabela 1: Distribuição de coeficientes de proteínas em sistemas de duas fases aquosas DEX 75 – PEG-8000 e DEX 75 – Ucon 50-HB-5100 de composição indicada.

Soluto	Coeficiente de Partição, K^a
	Sistema ^b
Lisozima	2,36
Lipase	0,716

^a Erro experimental em cada valor de K, sempre inferior a 5 %, e na maioria dos casos, menos de 2 %.

^b Composição do Sistema: 12,41 % DEX; 6,06 % PEG.

FONTE ADAPTADA: Madeira et. al., 2008, p. 153

Também em literatura, foi obtido o modelo matemático utilizado neste trabalho, de acordo com equações propostas por Scheibel (1954).

Resultados e Discussão

Na simulação feita, consideraram-se os estágios como ideais e que os compostos não se influenciam mutuamente quando em solução. Além disso, considerou-se também que as fases estão pré-equilibradas e que o solvente está puro.

O processo, no qual o algoritmo foi montado e a simulação executada, trata-se de uma extração contínua fracionada: a alimentação é feita em um estágio intermediário, fazendo com que o fluxo dentro do mesmo seja melhor direcionado.

Conforme o algoritmo proposto, com execução do cálculo com porcentagens acima de 80 %, verifica-se que se obtém um bom resultado utilizando um fator de recuperação entre 80 % e 90 %, pois se garante que a enzima desejada está com alto grau de purificação com o mínimo de contaminante possível, e também se utiliza relativamente poucos estágios, obtendo-se a enzima purificada de uma forma mais rápida.

De maneira geral, o gráfico abaixo (Figura 1) ilustra a relação entre o número de estágios e a fração da enzima a ser recuperada, de acordo com as porcentagens de recuperação propostas neste trabalho.

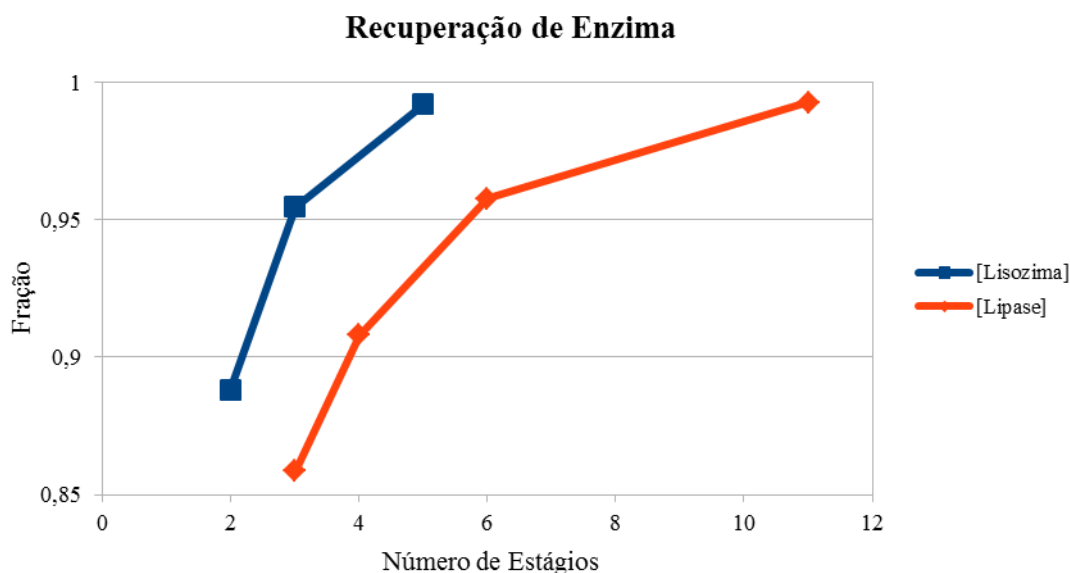


Figura 1: Recuperação da enzima de interesse (lipase) e sua contaminante (lisozima) em diferentes estágios.

A técnica utilizada neste trabalho apenas recupera uma porcentagem da enzima que entrou no extrator, podendo ser recuperado de 80 % à 99 % como demonstra o gráfico, e não produz uma solução com 80 %, 90 % ou 99 % de enzima alvo, por exemplo. Ou seja, ainda assim há uma solução bem diluída da enzima, que posteriormente pode ser concentrada, de acordo com a utilização da mesma no processo. Portanto, a técnica aplicada visa, o fracionamento da enzima-alvo de um contaminante, não sua concentração, que deverá ser efetuada por outro processo.

Outro item que pode ser ressaltado é que na literatura estudada não há explícito uma quantidade ideal da concentração da enzima a ser utilizada no processo de transesterificação com um biocatalisador, portanto neste trabalho procurou-se estudar concentrações de lipase mais puras possíveis para realmente evitar contaminação, assim como um grau de purificação que viabilize ainda mais o processo.

Conclusão

Obteve-se um método teórico de separação de proteínas por meio de extração líquido-líquido de forma fracionada. Podendo-se, a partir deste modelo, buscar opções ótimas para processos reais, minimizando-se tempo e materiais gastos em laboratório. Acrescentando, a partir deste modelo básico, diversos outros fatores que influenciam o processo, aproximando-se tanto quanto possível de um sistema real de extração.

Referências Bibliográficas

HASMANN, F. A. et al. **Purificação de biomoléculas intracelulares produzidas por microrganismos.** Disponível em: < <http://www.sbmicrobiologia.org.br/PDF/Foco1.pdf>>. Acesso em: 12 out. 2009.

MONTEIRO FILHO, E. S. **Equilíbrio de fases de sistemas contendo polímeros sintéticos e carboidratos em meio aquoso.** 2009. 259f. Tese (Doutorado em Engenharia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

MADEIRA, P. P. et. al. **Correlations between distribution coefficients of various biomolecules in different polymer/polymer aqueous two-phase systems.** Fluid Fase Equilibria. v. 206, p. 150-157, 2008.

SILVA, I.R.B. et al. **Produção de biocatalisadores utilizando bucha vegetal (Luffa cylindrica) como suporte para biomassa produtora de lipase e óleo de mamona como fonte de carbono.** Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2006/producao/Biocatalisadores21.pdf>>. Acesso em: 29 dez. 2009.

SCHEIBEL, E. G. **Calculation of liquid-liquid extraction processes**. Engineering and Process Development, v. 46, n. 1, p. 16-24, Jan. 1954.