

HIDRÓLISE DO ÓLEO DE CRAMBE CATALISADA POR LIPASE EXTRAÍDA DE SEMENTES DE MAMONA

P.R. SACKSER^{1*}, F. TAVARES¹, F. PINZAN¹, E. A. SILVA¹, C. E. BORBA¹.

¹ Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Engenharias e Ciências Exatas
*E-mail para contato: pamellasackser@hotmail.com

RESUMO – Com o intuito de realizar a hidrólise do óleo de crambe, buscou-se encontrar as condições ótimas de reação, empregando a enzima extraída da mamona (*Ricinus communis L.*), a fim de obter ácidos graxos livres para futura produção de biodiesel. As reações de hidrólise foram conduzidas em um Erlenmeyer com um agitador magnético, contando com 1000 rpm, aproximadamente. Foram realizados testes de pH, temperatura e de quantidade de solução, onde encontraram-se as maiores conversões no valor de 4 para o pH, em 35 °C e usando 6 mL de solução tampão na reação. No teste cinético, a porcentagem máxima de acidez do óleo de crambe foi de 68,15%, valor que se manteve aproximadamente o mesmo a partir de 2,5 horas de reação, significando que em poucas horas de reações, com condições amenas de temperatura e com a utilização de uma enzima de baixo custo, foi possível atingir um valor aceitável e satisfatório de conversão.

1. INTRODUÇÃO

Biocombustíveis tem gerado um grande entusiasmo em setores associados ao desenvolvimento científico e tecnológico da sociedade atual (Rocha *et al.*, 2013). O biodiesel é visto como um dos mais interessantes combustíveis renováveis, pois age como substituição parcial ou total do diesel derivado do petróleo, sendo biodegradável e ainda seguro para o meio ambiente. Este combustível pode ser produzido por diversos métodos e matérias primas, tais como os óleos vegetais e gorduras animais (Monisha *et al.*, 2013). Dos óleos vegetais usados para a produção do biodiesel, o Brasil oferece em abundância a soja, milho, amendoim, algodão, entre outros. Dentre estes, a soja é a mais utilizada, pois oferece uma grande quantidade de óleo extraído devido a sua produção no país, chegando a quase 90% em relação à outras leguminosas (Ferrari *et al.*, 2005).

Por mais que a produção da soja brasileira seja alta, do ponto de vista econômico, esta e algumas outras matérias primas podem tornar o biodiesel mais caro, pois competem com a indústria alimentícia (Monisha *et al.*, 2013). Desta forma, busca-se identificar e viabilizar matérias primas alternativas que evitem este problema, podendo citar como exemplos as microalgas, óleos de fritura usados, óleos não comestíveis, como exemplo o óleo de crambe (Rocha *et al.*, 2013). O óleo de crambe possui somente fins industriais, pois contém 60% de ácido erúico em sua composição, inviabilizando o consumo humano, tornando-se uma grande vantagem, pois não há questionamentos sobre a sua utilização como matéria prima para os biocombustíveis (Pitol *et al.*, 2007).

Um dos métodos mais utilizados para a conversão de óleos e gorduras de origem animal ou vegetal em biodiesel é a transesterificação, que de acordo com Dabdoub *et al.* (2009) é o processo de transformação de um éster carboxílico em outro para dar origem à glicerina e ao biodiesel. O álcool mais utilizado no biodiesel é o metanol, com um catalisador alcalino (Ferrari *et al.*, 2005). No entanto, a utilização de catalisadores básicos promove um maior nível de saponificação no processo, pois o catalisador reage com os ácidos graxos livres do óleo, formando sabão. De acordo com o Embrapa, o processo de transesterificação terá um resultado satisfatório com a utilização de óleos vegetais que contenham no máximo 3% de ácido graxo livre na sua composição. Óleos com este nível de acidez são os óleos refinados, que apresentam um maior custo na sua produção. Sendo assim, outras formas de conversão do biodiesel tornaram-se necessárias, tais como transesterificação ácida; esterificação seguida de transesterificação; reações em condições supercríticas, hidrólise seguida de esterificação (hidroesterificação), entre outras (Rocha *et al.*, 2013).

A hidroesterificação apresenta vantagens em relação a transesterificação, pois não há limitação na matéria-prima, sem necessidade de pré-tratamento, e caso utilize-se catalisadores heterogêneos, acabam por eliminar a formação de sabões, consequentemente eliminando as etapas de separação e produzindo uma glicerina de alta pureza com um possível reaproveitamento do catalisador (Aranda *et al.*, 2009).

Desta forma, a primeira etapa da hidroesterificação é a hidrólise, um processo que pode ser conduzido de forma química ou enzimática. A hidrólise química usa-se de catalisadores químicos, altas temperaturas e pressões. Já a hidrólise enzimática utiliza-se de condições amenas, tais como baixa temperatura, variáveis controladas, utilização de lipases, fazendo com que haja pouca modificação dos ácidos graxos (Augusto-Ruiz e Toralles, 1999). As lipases são responsáveis por quebrar as ligações de éster de triacilgliceróis com o consumo de moléculas de água e podem ser de origem microbiana ou vegetal, sendo a última com menor custo. Estas enzimas vegetais podem ser encontradas em diversas fontes, como por exemplo, no processo de germinação de sementes oleaginosas. O pinhão-manso e a mamona são exceções destas sementes, pois não necessitam da germinação (dormente) para ser detectada a lipase (Coelho *et al.*, 2013).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivo a hidrólise do óleo de crambe, utilizando a lipase extraída da mamona, para obtenção de ácidos graxos livres com o intuito de produzir biodiesel.

2. METODOLOGIA

Os experimentos foram realizados em laboratório pertencente a Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus Toledo / PR. O óleo de crambe foi gentilmente doado pela fundação de pesquisa MS que está localizado em Maracaju/MS. As sementes de mamona comercial (Espécie: *Ricinus communis L.*, Cultivar: IAC GUARANI) (Brseeds ®) foram adquiridas e acetona PA (Vetec) foi utilizada para extração da enzima. Uma solução de fenolftaleína (Synth ®) foi utilizada como indicador para a medição da acidez do óleo. Etanol absoluto (JTBaker) e éter etílico PA (Vetec) foram usadas no processo de medição. NaOH (Synth ®) foi utilizado para a determinação da acidez.

2.1. Preparo do catalisador

A lipase utilizada como catalisador das reações de hidrólise foi extraída das sementes de mamona. Foram adicionados em um triturador aproximadamente 100 gramas de semente com acetona. Emergiu-se a amostra em um béquer novamente em solução de acetona e incubou-se por 16 horas, sob refrigeração. Após esse procedimento, a amostra foi deixada em temperatura ambiente e exposta, de modo a evaporar a acetona residual, secando a amostra. A enzima foi mantida em refrigeração até seu uso.

2.2. Reações de hidrólise

As reações de hidrólise enzimática de óleo de crambe foram conduzidas em um reator (Erlenmeyer - 125 mL) com agitação de 1000 rpm e temperatura variável de acordo com o experimento. As quantidades precisas de óleo (10 g) e enzima (2g) foram pesadas em uma balança de precisão e colocadas diretamente no reator. Uma quantidade definida de uma solução tampão de pH de valor pré-determinado foi inserida no reator, iniciando a reação. No final da reação, colocou-se a amostra em um tubo e centrifugou-se por 5 min e 3000 rpm.

Foram realizados testes para determinar as condições ótimas de reação de hidrólise, alterando o pH com soluções tampões de acetato para pH ácido e tampões de amônia para pH básico, em seguida variando temperatura e por último também variando a quantidade de tampão utilizado. Um teste cinético foi realizado nos pontos ótimos encontrados.

2.3. Quantificação da acidez

A determinação da quantidade de ácidos graxos livres (AGL) presentes no óleo foi realizada por titulação com solução de NaOH (Synth®). Cerca de 1 g de óleo e duas gotas de solução de fenolftaleína foram diluídos em 15 mL de solução de etanol/éter (1:1). Esta solução foi titulada com uma solução de NaOH 0,1 M sob agitação vigorosa até a mudança de cor (mudança brusca de cor branca a rosa). Acidez de óleo foi calculada de acordo com a seguinte relação:

$$Acidez = 100 \cdot \frac{Vol \cdot M_{NaOH} \cdot MM_{AGL}}{p} \quad (1)$$

Onde Vol (mL) representa o volume utilizado de NaOH na titulometria, M_{NaOH} é a molaridade de NaOH ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) e p a massa do substrato (g). A massa molecular da AGL (MM_{AGL}) foi calculada como uma média ponderada pela fração molar do peso molecular dos ácidos graxos constituintes de óleo de crambe. ($MM_{AGL} = 315,4168 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$).

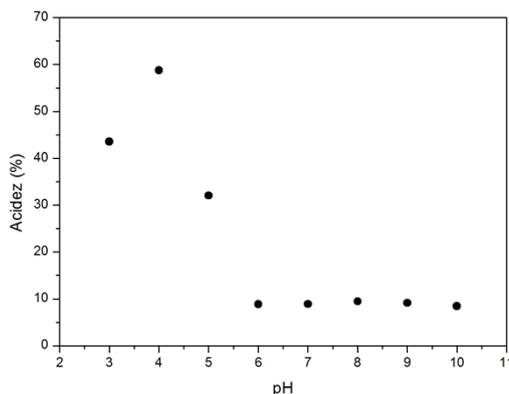
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Teste do pH

Um fator importante no estudo de reações catalisadas por enzimas é o controle de alguns fatores, tais como temperatura e pH. De acordo com Campestrini *et al.* (2005), no que se refere ao pH, as concentrações dos íons H^+ podem afetar a velocidade das reações. Valores extremos podem desnaturar as enzimas e, portanto, possuem um valor ótimo ou uma faixa

aceitável de pH de forma a desenvolver sua atividade catalítica. Desta forma, na Figura 1 estão dispostos os valores de acidez do óleo obtidos da reação de hidrólise do óleo de crambe nas condições já citadas e temperatura de 28°C, tempo de 2,5 h e 6 mL de solução cujo pH foi variado. Verifica-se que o pH ótimo, ou a faixa ideal, é aproximadamente o valor de pH 4, resultante num valor de 58,78% de acidez.

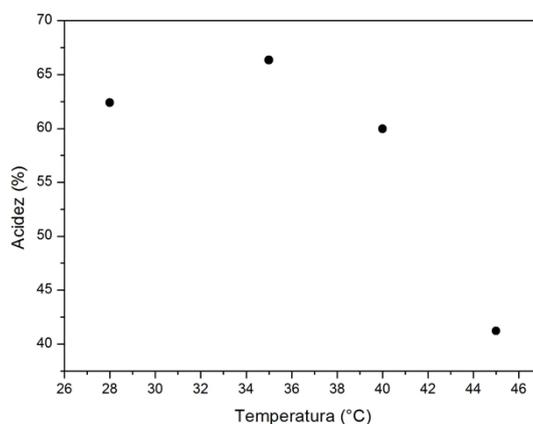
Figura 1 – Relação entre a acidez do óleo em função da variação de pH da solução tampão.



3.2. Teste da temperatura

A temperatura é outro fator a ser avaliado, pois em temperaturas excessivas os efeitos nas enzimas são letais. Elas possuem uma temperatura ou uma faixa de temperatura ótima, sendo sua atividade máxima (Campestrini *et al.*, 2005). A Figura 2 representa os dados obtidos ao relacionar-se este fator com a porcentagem de acidez. As reações de hidrólise foram mantidas nas condições de pH 4 (6 mL de solução) durante 2,5 h. A temperatura ótima da reação de hidrólise foi em torno de 35 °C, que resultou-se em 66,89% de acidez. Coelho *et al.* empregaram a semente de mamona na hidrólise do óleo de milho, determinando que a temperatura ótima de reação foi de 33 °C, utilizando uma solução tampão de acetato em pH 4,5. Desta forma, encontra-se um valor aceitável e viável de atividade da lipase nesta faixa de temperatura.

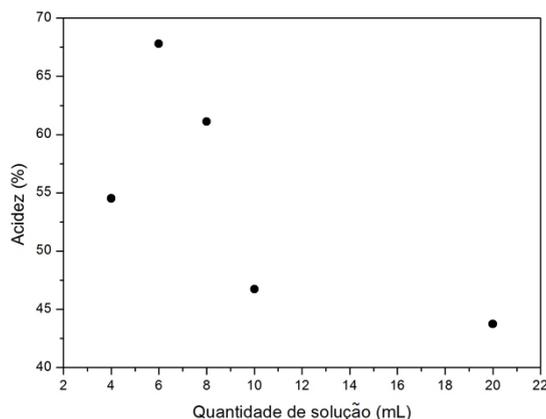
Figura 2 – Relação entre a acidez do óleo e a temperatura da reação de hidrólise.



3.3. Teste da quantidade de solução

Após determinada os valores de pH e temperatura ótimos para a reação de hidrólise, determinou-se a quantidade de solução tampão necessária para porcentagem máxima de acidez. A Figura 3 representa os valores obtidos neste teste, nas condições de temperatura de 35°C, pH 4 e tempo de 2,5 h. O ponto ótimo foi em 6 mL de solução tampão, apresentando 67,79% de acidez.

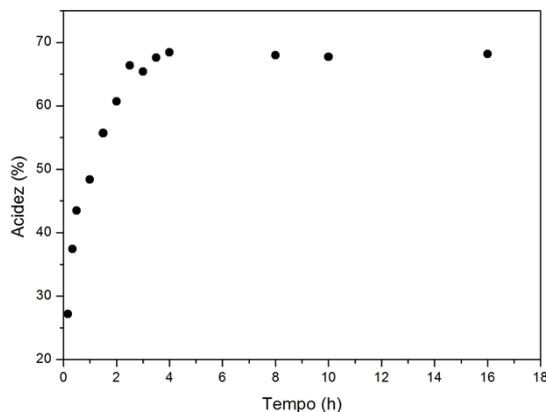
Figura 3 – Relação entre a acidez do óleo e a quantidade de solução tampão.



3.4. Teste cinético

Dadas as condições ótimas apresentadas acima, realizou-se um teste cinético, disposto na Figura 4. A porcentagem de acidez atingiu seu máximo e estabilizou-se em aproximadamente 2,5 h de reação, obtendo uma acidez de 68,15%. Após este tempo, não houve mudança significativa na porcentagem de acidez.

Figura 4 – Relação entre a acidez do óleo em função do tempo de reação nas condições ótimas: temperatura 35°C e 6 mL de solução pH 4



4. CONCLUSÕES

O presente trabalho teve como objetivo avaliar a hidrólise do óleo de crambe, para futura produção de ácidos graxos. Para tal reação, utilizou-se a lipase extraída da semente dormente da mamona, que apresentou uma porcentagem máxima de acidez em torno de 68,15%, nas condições de pH 4 e temperatura de 35°C, com 6 mL de solução tampão de acetato, atingido nas 2,5h de reação. Tais resultados indicam um rendimento satisfatório, pois utilizou-se de condições amenas de temperatura e baixo tempo de reação. Vale ressaltar a utilização de uma enzima de baixo custo e de fácil obtenção. Sendo assim, este processo possui um importante resultado para as futuras reações de esterificação a serem utilizadas para a obtenção do biodiesel.

5. REFÊRENCIAS

ARANDA, D. A. G.; GONÇALVES, J. A.; PERES J. S.; RAMOS A. L. D.; MELO - JUNIOR C. A. R.; ANTUNES, O. A. C.; FURTADO, N. C.; TAFT C. A, The use of acids, niobium oxide, and zeolite catalysts for esterification reactions. *Journal of Physical Organic Chemistry*, v. 22, p. 709-716, 2009.

AUGUSTO-RUIZ, W.; TORALLES, R. P. Hidrólise enzimática dos óleos vegetais. *Óleos e Grãos*, São Paulo, p. 42-48, 1999.

COELHO, A. D.; SANTOS, K. C.; DOMINGUES, R. C. C. Produção de concentrado de ácidos graxos por hidrólise de óleos vegetais mediada por lipase vegetal. *Química Nova*, v. 36, p. 1164-69, 2013.

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: Visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. *Química Nova*, v. 32, p. 776-792, 2009.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. da S.; SCABIO, A. Biodiesel de soja – taxa de conversão em ésteres etílicos, caracterização físico-química e consumo em gerador de energia. *Química Nova*, v. 28, p. 19-23, 2005.

MONISHA, J.; HARISH, A.; SUSHMA, R.; KRISHNA, T. P. M.; BLESSY, M. B.; ANANDA, S. Biodiesel: A Review. *Journal of Engineering*, v.3, p. 902-912, 2013.

PITOL, C.; ROSCOE, R.; ERBES, E. J.; ROMEIRO, T. da S.; SANTOS, J. F. dos. Cultura do Crambe Resultados e Experimentação. *Fundação MS*, p. 145-150, 2007.

ROCHA, G. O. da; ANDRADE, J. B. de; GUARIEIRO, A. L. N.; GUARIEIRO, L. L.N.; RAMOS, L. P. Química sem fronteiras: o desafio da energia. *Química Nova*, v. 36, 1540-1551, 2013.

<http://www.agencia.cnptia.embrapa.br/gestor/agroenergia/arvore/CONT000fj0847od02wyiv802hvm3juldruvi.html>