

ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO GLICEROL COM ÁCIDO LÁURICO EM MEIO ISENTO DE SOLVENTES EMPREGANDO LIPASE IMOBILIZADA

¹ Larissa de Freitas, Tânia Bueno, ² Heizir F. de Castro

^{1,2}Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Departamento de Engenharia Química/DEQUI, Rodovia Itajubá-Lorena Km 74,5, Campinho, 12600-970, Lorena-SP e-mail: heizir@dequi.fauenquil.br

Palavras-chave: Esterificação, Lipases, Glicerol, Ácido Láurico

Área do Conhecimento: III - Engenharias

Resumo- O trabalho visa o aproveitamento do glicerol formado como subproduto em diversos processos da indústria oleoquímica, como hidrólises, saponificações e principalmente na produção de biodiesel que pode vir a se tornar uma realidade industrial no contexto nacional. Os métodos de obtenção de monoglicerídeos por catálise enzimática, incluem: glicólise de triglicerídeos, esterificação ou transesterificação de glicerol com ácidos graxos de ésteres. O presente trabalho é referente a esterificação direta de glicerol e ácido láurico (principal componente do óleo de babaçu) em meio isento de solvente utilizando lipase imobilizada (Lipozyme) como catalisador. As esterificações foram realizadas variando-se a razão molar dos reagentes, obtendo-se uma maior conversão quando se utilizou excesso do ácido láurico.

Introdução

Qualquer substância que seja capaz de ajudar a formação de uma mistura estável de duas substâncias anteriormente imiscíveis é denominada emulsificante. Os emulsificantes são constituídos de substâncias anfílicas, cuja estrutura química contém funções hidrofílicas e funções hidrofóbicas. Esta estrutura química particular lhes confere propriedades emulsificantes já que se situam na interface de duas fases imiscíveis, reduzindo a tensão superficial, permitindo que elas se misturem, formando a emulsão.

Os alimentos são sistemas múltiplos constituídos principalmente por água, proteínas, carboidratos e gorduras, por isso necessitam de emulsificantes. Os organismos vivos têm seu próprio sistema emulsificante. Para a utilização em alimentos industrializados, alguns emulsificantes são extraídos de outros alimentos ou sintetizados, imitando os naturais. Entre esses, os monoglicerídeos constituem a principal categoria de agentes emulsificantes de uso alimentício, principalmente nas indústrias de panificação, de sorvetes, de margarina, de cosméticos e farmacêutica. Adicionalmente, monoglicerídeos são intermediários para a síntese de lipídeos, cristais líquidos e encapsulantes de medicamentos [1].

Recentemente, tem surgido um grande interesse na transformação biotecnológica de óleos e gorduras, visando a utilização destas matérias-primas na produção de compostos de alto valor agregado, de uso potencial na indústria farmacêutica, de alimentos, produção de sabões, plásticos, combustíveis naturais, glicerol,

emulsionantes e outros [2, 3 e 4]. Muitos estudos têm sido realizados com o intuito de otimizar os processos de modificação de óleos e gorduras catalisados por lipases, incluindo a utilização de meios não convencionais, imobilização da enzima, estudos cinéticos e de estabilidade da enzima, modificações químicas e desenvolvimento de biorreatores [5].

Três metodologias podem ser citadas para a obtenção de monoglicerídeos por catálise enzimática empregando a enzima lipase: (1) hidrólise ou alcoólise de triglicerídeos (2) glicólise de triglicerídeos, (3) esterificação ou transesterificação de glicerol com ácidos graxos de ésteres.

Os óleos vegetais são produtos naturais constituídos por uma mistura de ésteres resultantes da condensação de uma molécula de glicerol (triacilgliceróis ou triglicerídeos) com três moléculas de ácidos graxos. Os ácidos graxos mais comumente encontrados nos óleos apresentam cadeias de 16 e 18 átomos de carbono. Essas cadeias podem ser saturadas (sem duplas ligações) ou insaturadas (com duplas ligações). Estas podem ser mono, di ou tri-insaturadas, dependendo da quantidade de duplas ligações carbono/carbono. A diferença entre óleos e gordura resume-se basicamente na aparência [6]. A resolução 20/77 do CNNPA define a temperatura de 20°C como limite inferior para o ponto de fusão das gorduras, classificando como óleo todos os lipídeos de ponto de fusão inferior a essa temperatura.

Conforme a espécie de oleaginosa, variações na composição química do óleo vegetal são expressas por variações na relação molar entre

os diferentes ácidos graxos presentes na estrutura.

A Tabela 1 apresenta a composição de alguns óleos vegetais, com potencial de utilização na produção de emulsificantes.

Tabela 1 - Composição em ácidos graxos de diferentes óleos vegetais.

Ácido Graxo	Óleo Vegetal			
	Oliva	Soja	Babaçu	Palma
Octanóico	0	0	3,5	0
Decanóico	0	0	4,5	0
Láurico	0	0	44,7	0,1
Mirístico	0	0,1	17,5	1,2
Palmitico	16,9	10,5	9,7	46,8
Estearico	2,7	3,2	3,1	3,8
Oleico	61,9	22,3	15,2	37,6
Linoleico	14,8	54,5	1,8	10
Linolênico	0,6	8,3	0	0
Ricinoleico	0	0	0	0

É importante ressaltar que vários tipos de óleos, com diferentes composições em ácidos graxos podem ser usados para preparação de monogliceróis, sendo os mais utilizados os óleos de soja, girassol e palma. Entretanto, não existem limitações técnicas para o uso de qualquer outro tipo de óleo. Vários aspectos, incluindo tipo de catalisador (químico ou bioquímico), razão molar, temperatura, pureza dos reagentes (incluindo teor de água) e composição dos ácidos graxos livres interferem na eficiência da reação.

Neste trabalho será adotado como modelo de estudo a esterificação direta do glicerol com ácido graxo láurico analisando a influência da proporção molar entre os reagentes na conversão do éster formado. A reação de síntese foi efetuada em fase orgânica, na ausência de solventes, tendo em vista as vantagens deste tipo de sistema, como maior segurança (em relação à toxicidade e a inflamabilidade dos solventes orgânicos), redução nos custos de extração do solvente e aumento das concentrações dos reagentes no reator. Para favorecer a eliminação da água formada na reação de esterificação, as reações foram conduzidas em reatores batelada aberto.

Materiais e Métodos

Materiais: Todos experimentos foram realizados com uma preparação comercial de lipase (Lipozyme IM20, 24 BIU/g) gentilmente doada pela Novozymes (Dinamarca). Lipozyme IM20 é uma lipase de *Rhizomucor miehei* imobilizada por adsorção em uma resina de troca aniônica macroporosa (tamanho de partícula de 0.2 a 0.6 mm). Essa preparação de lipase é classificada

como 1,3-específica e termo-estável, podendo ser usada em temperaturas entre 30°C e 70°C. No entanto, para estender a estabilidade operacional é recomendado trabalhar em temperaturas na faixa de 40-60°C. O posicionamento específico desta lipase por ácidos graxos depende dos substratos usados. Essa preparação de lipase pode ser usada em meio livre de solvente ou na presença de solventes biocompatíveis. Outros reagentes utilizados foram glicerol, ácido láurico, solventes (acetona; etanol), peneira molecular 0,32 cm diâmetro (Silicato de sódio e alumínio) tipo 13 X-BHD Chemicals; bases (hidróxido de sódio) e indicador ácido-base (fenolftaleína).

Procedimento geral de esterificação: As sínteses foram realizadas em balões de fundo redondo (50 mL), contendo misturas adequadas de glicerol e ácido láurico e preparação de lipase imobilizada, com agitação magnética à 60°C. Esses experimentos foram realizados variando-se a razão molar dos reagentes. O progresso da síntese foi acompanhado pela retirada de alíquotas, ao longo da reação, quantificando o consumo de ácido graxo.

Análise da concentração de ácido graxo: A concentração de ácido graxo foi determinada por titulação de alíquotas dissolvidas em 10 mL de etanol p.a (98°GL, Comercial), empregando-se solução alcoólica de KOH 0,02N (Merck) e fenolftaleína como indicador, utilizando bureta digital de 50mL (Hirshmann Techcolor). Os cálculos foram efetuados pela equação 1.

$$AG = \frac{V * N * M}{m} \quad (1)$$

em que: V = volume de KOH gasto na titulação (ml); M = massa molecular do ácido graxo titulado (mol); N = normalidade da solução de KOH ; m = massa da alíquota titulada (g).

A conversão do substrato foi expressa em conversão molar do ácido graxo consumido, empregando a equação 2.

$$\% \text{ Molar} = \frac{[(C_0 - C)]}{C_0} \times 100 \quad (2)$$

em que: C₀ = concentração inicial do reagente e C = concentração do reagente em um determinado tempo.

Resultados

Foram testadas diferentes razões molares entre glicerol (Glic) e ácido láurico (AcLau), proporção equimolar (1:1), excesso de glicerol (3:1) e excesso de ácido láurico (1:3). Os resultados obtidos são mostrados nas Tabelas 2 a 4 e Figuras 1 e 2.

Tabela 2 - Dados referentes aos experimentos efetuados com reagentes em proporção equimolares (Glic, AcLau 1:1).

Tempo (min)	Ácidos Graxos (mM)	Conversão molar (%)
0	4109,54	-
5	3964,96	3,52
30	3693,67	10,12
60	3185,54	22,48
90	2635,89	35,86
120	2036,22	50,45
150	1986,92	51,65
180	1107,21	73,06
210	848,59	79,35
240	670,17	83,70

Tabela 3 - Dados referentes aos experimentos com substratos contendo excesso de glicerol (Glic, AcLau 3:1).

Tempo (min)	Ácidos Graxos (mM)	Conversão molar (%)
0	4021,50	-
5	3988,17	0,83
30	3339,86	16,95
60	3124,00	24,80
90	1901,00	47,27
120	1884,96	53,13
150	1352,00	66,38
180	707,70	82,40
210	573,45	85,74
240	226,89	94,36

Tabela 4 - Dados referentes aos experimentos com substratos contendo excesso de ácido láurico (Glic, AcLau 1:3).

Tempo (min)	Ácidos Graxos (mM)	Conversão molar (%)
0	3962,74	-
5	3868,23	2,39
30	3646,35	7,89
60	3477,83	12,24
90	3057,27	22,85
120	2938,95	25,84
150	2520,67	36,40
180	2404,36	39,33
210	2233,23	43,64
240	2084,88	47,38

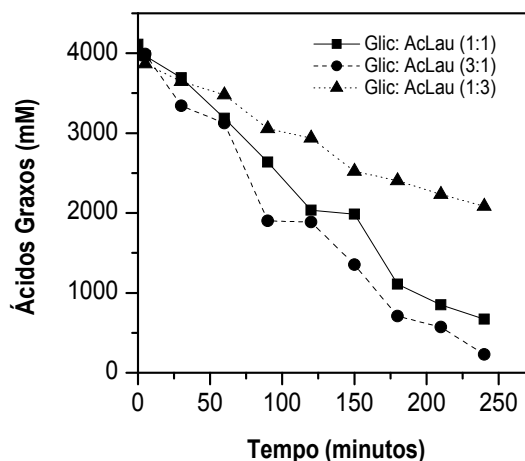


Figura 1- Perfil do consumo do ácido láurico na reação de esterificação do laurato de glicerila empregando substratos contendo diferentes proporções molares entre Glic e AcLau (T=60°C).

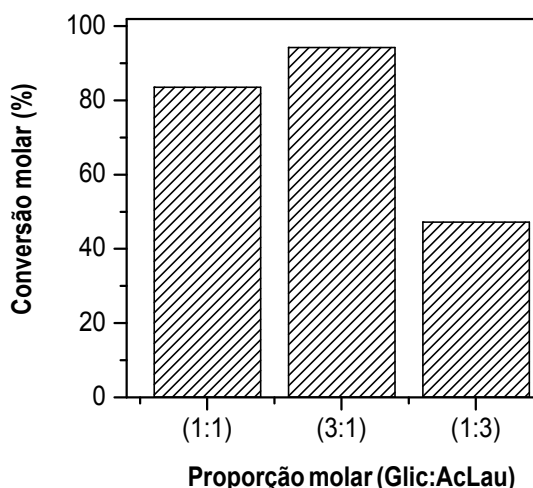


Figura 2 - Influência da proporção molar dos reagentes na esterificação do glicerol com ácido láurico.

Discussão

A proporção molar dos materiais de partida influenciou acentuadamente a formação do laurato de glicerila.

Conversões molares mais elevadas foram obtidas quando foi utilizado substrato contendo excesso de glicerol, atingindo 94,36% de conversão ao final de 4 h de reação (Tabela 3). Para substratos contendo excesso de ácido, a conversão máxima obtida foi de 47,38% para o mesmo período de reação (Tabela 4). Os resultados obtidos e sumarizados na Figura 2, ilustram bem o efeito da proporção molar no rendimento de esterificação.

Resultados semelhantes foram representados por [7] no sistema glicerol e ácido oleico, empregando enzima microbiana bruta de *Penicillium* sp.

Trabalhos visarão à otimização dos outros parâmetros que afetam esta reação (temperatura, tipo de enzima e teor de água) adotando planejamento experimental.

Referências

[1] BERGER, M., SCHNEIDER, M. Regioisomerically pure mono-and diacylglycerols as synthetic building blocks. **Fat Sci. Technol.** v. 95, p. 169-175, 1993.

[2] GANDHI, N.N. Applications of lipase. **J. Am. Oil Chem. Soc.**,v. 74, p. 621, 1997.

[3] CASTRO, H.F., MENDES, A.A.; SANTOS, J.C., AQUIAR, C.L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Quim. Nova**, v. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

[4] NASCIMENTO, M.G., COSTA NETO, P.R, MAZZUCO, L.M. Biotransformação de óleos e gorduras. **Biotec. Ciênc. e Desenv.** v. 17, p. 28-31, 2001.

[5] FACIOLI, N.L.; GONÇALVES, L.A.G. Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo de piqui. **Quím. Nova**, v. 21, n. 1, p.16-19, 1998.

[6] COSTA NETO, P.R., ROSSI, L.F.S., ZAGONEL, G.F., RAMOS, L. P. Produção de biocombustíveis alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Quim. Nova**. v. 23, n. 4, p. 531-53, 2000.

[7] PASTORE, G.M, PARK, Y.K.. Produção de monoleína por lipase microbiana. **Ciênc.Tecnol. Aliment.** v. 13, n.1, p. 13-21, 1993.