



OBTENÇÃO DE UM LUBRIFICANTE BIODEGRADÁVEL A PARTIR DE ÉSTERES  
DO BIODIESEL DA MAMONA VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA E ESTUDOS DE  
ESTABILIDADES OXIDATIVA E TÉRMICA

José André Cavalcanti da Silva

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Doutor em Engenharia Química.

Orientador(es): Alberto Cláudio Habert  
Denise Maria Guimarães Freire


Rio de Janeiro  
Outubro de 2012

OBTENÇÃO DE UM LUBRIFICANTE BIODEGRADÁVEL A PARTIR DE ÉSTERES  
DO BIODIESEL DA MAMONA VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA E ESTUDOS DE  
ESTABILIDADES OXIDATIVA E TÉRMICA


José André Cavalcanti da Silva

TESE SUBMETIDA AO CORPO DOCENTE DO INSTITUTO ALBERTO LUIZ  
COIMBRA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA DE ENGENHARIA (COPPE) DA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO COMO PARTE DOS REQUISITOS  
NECESSÁRIOS PARA A OBTENÇÃO DO GRAU DE DOUTOR EM CIÊNCIAS EM  
ENGENHARIA QUÍMICA.


Examinada por:



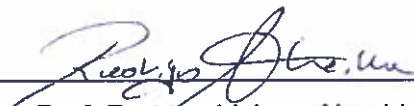
Prof. Alberto Cláudio Habert, Ph.D.




Profª. Denise Maria Guimarães Freire, D.Sc.



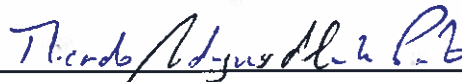
Profª. Helen Conceição Ferraz, D.Sc.



Prof. Rodrigo Volcan Almeida, D.Sc.



Prof. Emerson Meyer, D. Sc.



Dr. Ricardo Rodrigues da Cunha Pinto, D.Sc.

RIO DE JANEIRO, RJ – BRASIL

OUTUBRO DE 2012

Silva, José André Cavalcanti da

Obtenção de um Lubrificante Biodegradável a partir de Ésteres do Biodiesel da Mamona via Catálise Enzimática e Estudos de Estabilidades Oxidativa e Térmica/

José André Cavalcanti da Silva. - Rio de Janeiro: UFRJ/COPPE, 2012.

XIX, 169 p. : il. ; 29,7 cm.

Orientadores : Alberto Cláudio Habert

Denise Maria Guimarães Freire

Tese (doutorado) – UFRJ/ COPPE/ Programa de Engenharia Química, 2012.

Referências Bibliográficas : p. 155-166.

1. Biolubrificantes. 2. Transesterificação. 3. Catálise Enzimática. I. Habert, Alberto Cláudio, *et al.* II. Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Programa de Engenharia Química. III. Título.

## Agradecimentos

Agradeço a Deus a oportunidade de realização deste imenso sonho. Toda iluminação e clareza de idéias a mim concedidas durante este período de intenso e prazeroso trabalho.

Aos meus pais, Ângela e Roberto, pelo apoio, mesmo à distância, e incentivo à realização deste projeto, sobretudo nos períodos mais turbulentos.

Aos meus tios, Plácido, Leda e Zita, e a minha avó Pizinha, cuja incansável dedicação continua me ajudando a realizar um número cada vez maior de sonhos.

À Shirley, pelo carinho, amor e compreensão dedicados na reta final deste trabalho, os quais muito contribuíram e contribuem para que eu mantenha calma e discernimento nas minhas atitudes.

À Vânia Periquito, grande incentivadora e facilitadora deste meu sonho, e sem o apoio da qual o mesmo não seria possível. Além da amizade e conselhos que me auxiliam continuamente no meu desenvolvimento.

Ao meu amigo Luiz Fernando Lastres pela compreensão da minha falta de tempo para outras atividades em certos períodos e pelas “dicas” de comportamento e relacionamento tão importantes ao meu desenvolvimento profissional.

À Selena Caravelli, por me apoiar e incentivar, contribuindo para que eu me mantivesse calmo, autoconfiante e motivado.

À Valéria Soares, meus braços direito e esquerdo, cuja dedicação e empenho na realização de inúmeras repetições de reações e análises contribuiu de forma decisiva para que os resultados apresentados neste trabalho fossem atingidos.

À Magali, cujos ensaios e reações realizadas contribuíram muito para o sucesso deste projeto. A sua ajuda foi e é decisiva para o desenvolvimento deste desafio.

Aos colegas da LPE, em especial à Marly, Paulo Eduardo, Adriana (Crocodila), Margareth, Leni, Diego, Guilherme, Ulisses, Letícia, Nei, Flávio, Daniele, Marquinhos, Manoel, PC e Jorge, pelos ensaios realizados cujos resultados foram decisivos as minhas conclusões. E pela participação direta ou indiretamente em algumas etapas deste projeto.

À Jussara e Flávia, pelo apoio operacional e administrativo, e pela paciência para com as minhas “super” urgências nas compras de material.

À gerência de química, em especial a Flávio e Marcele (HPLC), pelas análises que serviram de base para as conclusões desta tese. A dedicação de Marcele neste trabalho foi decisiva para o sucesso do mesmo.

Ao colega Vidal, da gerência de CB pelo suprimento inesgotável de Biodiesel, e pelas discussões técnicas altamente enriquecedoras.

À grande amiga e incentivadora Maria Adelina da Universidade Petrobras, cujos conselhos e orientações estão sempre presentes na minha vida profissional.

Ao colega João Augusto, da PBIO, um dos primeiros a me incentivar e acreditar na viabilidade deste trabalho.

Aos colegas Marcílio e André Fachetti, por sempre facilitar e disponibilizar as instalações das suas respectivas gerências para que alguns dos meus testes fossem realizados.

Ao grandes amigos da ISU, José Gerde, Juliana Nóbrega e Neiva Almeida, cujo apoio na forma de discussões técnicas e não técnicas (as melhores) e empréstimos de reagentes e materiais quando da minha estada em Ames foram de extrema importância para a minha rápida adaptação aos EUA e para que grande parte dos resultados aqui apresentados fossem atingidos.

À minha orientadora, professora Denise, por toda a paciência, incentivo, motivação, correções, entusiasmo, e acima de tudo, encorajamento e excelente orientação a mim dispensada. Que venham os nossos próximos trabalhos!

Aos professores Habert, Tong Wang, Dr. Hammond e Linxing, pelas discussões altamente construtivas, pelas sugestões na elaboração de relatórios e seminários, pelas formas de fazer correções e, acima de tudo, pela orientação a mim dispensada.

A Petrobras, pelo investimento e apoio na realização deste projeto de vida.

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D. Sc.)

OBTENÇÃO DE UM LUBRIFICANTE BIODEGRADÁVEL A PARTIR DE ÉSTERES DO BODIESEL DA MAMONA VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA E ESTUDOS DE ESTABILIDADES OXIDATIVA E TÉRMICA

José André Cavalcanti da Silva

Outubro/2012

Orientadores: Alberto Cláudio Habert

Denise Maria Guimarães Freire

Programa: Engenharia Química

No Mundo, 12 milhões de toneladas por ano de lubrificantes são liberadas no meio ambiente através de vazamentos, descartes inadequados, emulsões óleo-água, gases de exaustão de componentes, etc. Alguns são resistentes à biodegradação, representando uma ameaça ao meio ambiente. Uma das soluções para modificar esta situação é a substituição dos óleos minerais por lubrificantes sintéticos biodegradáveis (ésteres). Assim, neste trabalho, investigou-se a obtenção, por catálise enzimática, de lubrificantes básicos sintéticos, utilizando-se como matéria-prima os biodieseis metílicos de mamona (ricinoleato de metila), de soja e de pinhão manso. Foram estudadas as influências das variáveis de processo (tipo e teor de enzima, teor de água, temperatura, concentração de biodiesel, tempo de reação) em reatores de vidro (50mL), sob vácuo e temperatura controlada. Os produtos e a conversão do substrato das reações de transesterificação foram determinados por cromatografia líquida (HPLC). Nas melhores condições reacionais foram encontradas conversões superiores a 95%, em 24 horas, utilizando-se como biocatalisador a lipase de *Candida rugosa*. Os produtos obtidos apresentaram as seguintes propriedades lubrificantes e físico-químicas: viscosidade a 40°C: 291,6 cSt; viscosidade a 100°C: 27,59 cSt; índice de viscosidade: 126; e RPVOT (Estabilidade oxidativa): 40 minutos. Estes resultados indicaram a viabilidade da rota proposta, com o biocatalisador (lipase), na obtenção de lubrificantes sintéticos biodegradáveis. Além disso, estudos de estabilidades oxidativa e térmica de biolubrificantes foram realizados com técnicas desenvolvidas e otimizadas durante a realização deste trabalho.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D. Sc.)

SYNTHESIS OF A BIODEGRADABLE LUBRICANT FROM CASTOR BIODIESEL ESTERS VIA ENZYMATIC CATALYSIS AND OXIDATIVE AND THERMAL STABILITY STUDIES

José André Cavalcanti da Silva

October/2012

Advisors:     Alberto Cláudio Habert  
                  Denise Maria Guimarães Freire

Department: Chemical Engineering

Worldwide, 12 Million tons/year of lubricants are disposed of in the environment through leakages, exhausted gases, inadequate disposal, water-oil emulsions, etc. Some of them are resistant to biodegradation, representing an environmental threat. One solution to modify this situation is the replacement of the mineral oils by biodegradable synthetic lubricants (Esters). Thus, in this work, it was investigated the production, through enzymatic catalysis, of synthetic base oils using castor (methyl ricinoleate), soybean and jatropha methyl biodiesels as raw material. The influence of the process variables (enzyme type and content, water content, temperature, biodiesel concentration, residence time) was studied in glass reactors (50 mL) under vacuum and controlled temperature. The products and the substratum conversion of the transesterification reactions were determined by liquid chromatography (HPLC). From the best reaction conditions, products with higher than 95% yields were obtained, in 24 hours, using a *Candida rugosa* lipase as biocatalyst. These products showed the following properties: viscosity at 40°C: 291.6 cSt; viscosity at 100°C: 27.59 cSt; viscosity index: 126; and RPVOT (oxidative stability): 40 minutes. These results indicated the feasibility of the proposed process route, with the biocatalyst (lipase), for the production of synthetic biodegradable lubricants. Besides, oxidative and thermal stability studies of biolubricants were performed using techniques, which were developed and optimized during the achievement of this work.

## ÍNDICE GERAL

<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>1</b>
<b>1. OBJETIVOS</b> .....	<b>4</b>
<b>2. LUBRIFICANTES E BIOLUBRIFICANTES</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 Lubrificantes</b> .....	<b>5</b>
<b>2.2 Biolubrificantes</b> .....	<b>8</b>
<b>2.3 Química da Obtenção dos Biolubrificantes</b> .....	<b>14</b>
2.3.1 Reações nos grupos carboxila dos óleos vegetais.....	<b>17</b>
2.3.1.1 Transesterificação.....	<b>17</b>
2.3.2 Reações envolvendo a cadeia de hidrocarboneto nos óleos vegetais .	<b>20</b>
2.3.2.1 Hidrogenação.....	<b>20</b>
2.3.2.2 Epoxidação .....	<b>21</b>
<b>2.4 Propriedades Físico-Químicas e de Desempenho de Óleos Lubrificantes</b> .....	<b>21</b>
2.4.1 Propriedades físicas .....	<b>23</b>
2.4.1.1 Viscosidade e IV .....	<b>23</b>
2.4.1.2 Fluidez em baixas temperaturas .....	<b>24</b>
2.4.2 Propriedades de desempenho .....	<b>25</b>
2.4.2.1 Lubricidade, EP (extrema pressão) e comportamento antidesgaste. .....	<b>25</b>
2.4.2.2 Eficiência energética.....	<b>25</b>
2.4.2.3 Poder de solvência e compatibilidade .....	<b>26</b>
2.4.3 Propriedades químicas .....	<b>26</b>
2.4.3.1 Estabilidade térmica e oxidativa .....	<b>26</b>
2.4.3.2 Estabilidade hidrolítica .....	<b>32</b>
2.4.3.3 Biodegradabilidade .....	<b>33</b>
<b>2.5 Oxidação de Superfície</b> .....	<b>34</b>
<b>2.6 Estabilidade Térmica</b> .....	<b>35</b>
<b>2.7 Aplicações e Usos dos Biolubrificantes</b> .....	<b>36</b>
<b>3. LIPASES E BIOLUBRIFICANTES</b> .....	<b>41</b>
<b>3.1 Aplicações das Lipases</b> .....	<b>47</b>
3.1.1 Uso de lipases na síntese de biodiesel.....	<b>52</b>
3.1.2 Uso de lipases na síntese de ésteres biolubrificantes.....	<b>53</b>
<b>4. MATÉRIAS PRIMAS PARA OS BIOLUBRIFICANTES</b> .....	<b>59</b>
<b>4.1 A Mamona e seus Derivados</b> .....	<b>59</b>
<b>4.2 A Soja</b> .....	<b>62</b>



4.3	<b>O Pinhão Manso</b> .....	63
5.	<b>METODOLOGIA</b> .....	65
5.1	<b>Materiais</b> .....	65
5.2	<b>Aparelhagem e Condições Reacionais das Reações Enzimáticas</b> .....	66
5.3	<b>Determinação das Atividades Enzimáticas</b> .....	68
5.3.1	Atividade de hidrólise.....	68
5.3.2	Atividade de esterificação .....	69
5.4	<b>Síntese e Purificação do Éster Ricinoleato de Metila (MeR) (empregado na etapa de estudo da estabilidade oxidativa)</b> .....	70
5.5	<b>Síntese e Purificação do Éster 12-Acetilricinoleato de metila (12Ac)</b> ....	71
5.6	<b>Síntese e Purificação do Acetil-TMP (Trimetilolpropano)</b> .....	71
5.7	<b>Metodologia Analítica</b> .....	72
5.7.1	Viscosidade cinemática - ASTM D 445 .....	72
5.7.2	Índice de viscosidade – ASTM D 2270 .....	73
5.7.3	Ponto de fluidez – ASTM D 97 .....	73
5.7.4	Estabilidade oxidativa pela bomba rotatória (RPVOT) – ASTM D 2272	74
5.7.5	Análise de termogravimetria (TGA).....	75
5.7.6	Cromatografia líquida de alta performance (HPLC) .....	75
5.7.7	Cromatografia líquida de camada fina (TLC) .....	77
5.7.8	Cromatografia gasosa (GC).....	77
5.7.9	Ressonância magnética nuclear (RMN).....	77
5.8	<b>Oxidação de Superfície</b> .....	77
5.9	<b>Purificação da Sílica Gel</b> .....	78
5.10	<b>Índice de Peróxido (IP) – AOCS Cd 8-53</b> .....	78
5.11	<b>Índice de Estabilidade Oxidativa (OSI) – AOCS Cd 12b-92</b> .....	79
5.12	<b>Estabilidade Térmica</b> .....	79
5.13	<b>Análise de Tocoferol</b> .....	80
5.14	<b>Metodologia de Análise de Dados</b> .....	80
6.	<b>RESULTADOS e DISCUSSÃO</b> .....	89
6.1	<b>Seleção da Enzima</b> .....	89
6.2	<b>Reações Preliminares</b> .....	89
6.3	<b>Planejamento Experimental</b> .....	109
6.4	<b>Síntese e Caracterização das Estabilidades Oxidativa e Térmica do Biolubrificante</b> .....	118
6.4.1	Síntese e purificação do ricinoleato de metila (matéria-prima para síntese do biolubrificante) .....	119
6.4.2	Síntese e purificação do 12-acetilricinoleato de metila (12Ac) .....	121

6.4.3	Oxidação de superfície .....	124
6.4.4	Índice de estabilidade oxidativa - OSI .....	140
6.4.5	Estudos de estabilidade térmica e sua relação com o hidrogênio $\beta$ ... ..	141
<b>7.</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>151</b>
<b>8.</b>	<b>TRABALHOS PUBLICADOS E PATENTES GERADAS.....</b>	<b>153</b>
<b>9.</b>	<b>RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>154</b>
<b>10.</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>155</b>
<b>11.</b>	<b>ANEXO 1 .....</b>	<b>167</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estrutura da composição dos óleos minerais. ....	6
Figura 2: Moléculas dos ácidos oléico e linolênico. ....	11
Figura 3: Molécula genérica de um “estolide” .....	12
Figura 4: Esquema da reação de esterificação de um ácido carboxílico e um álcool. ....	17
Figura 5: Mecanismo de uma reação de esterificação.....	18
Figura 6: Reação de transesterificação de um éster com um álcool. ....	19
Figura 7: Estruturas Moleculares de Ésteres de Poliálcool derivados do Ácido Ricinoléico.....	20
Figura 8: a) Decomposição térmica de ésteres com um átomo de hidrogênio no carbono beta da parte alcoólica; b) Decomposição via radicais livres de ésteres sem hidrogênio beta.....	35
Figura 9: Moléculas dos compostos Triacetina e Acetil-TMP.....	36
Figura 10: Mecanismo geral esquemático de reações catalisadas por lipases, considerando uma reação de transesterificação (tríade catalítica numerada como CaL-B, ou seja, Ser105-His224-Asp187; primeiro substrato = EtOAc, segundo substrato = ROH) (adaptado de SIMAS <i>et al</i> , 2011).....	44
Figura 11: Esquema das conformações fechada – E (A) e aberta – E*S (B), com a indicação da estrutura secundária, da lipase de <i>Rhizomucor miehei</i> (adaptado de JÄÄSKELÄINEN <i>et al</i> , 1998). ....	46
Figura 12: Representação esquemática das reações catalisadas pelas lipases..	48
Figura 13: Hidrólise sequencial dos grupos acila no glicerídeo, catalisada por lípsases.....	51
Figura 14: Estrutura molecular do Óleo de Mamona ( <i>Ricinus communis</i> ).....	60
Figura 15: Aparato utilizado nas reações de transesterificação. ....	67
Figura 16: Reação de transesterificação do ricinoleato de metila com TMP em presença de catalisador enzimático. ....	68
Figura 17: Reação de transesterificação do óleo de mamona com metanol.....	70
Figura 18: Reação de acetilação do ricinoleato de metila com acetato de metila. .....	71
Figura 19: Reação de síntese do acetil-TMP.....	72
Figura 20: Equipamentos para medição da viscosidade cinemática.....	72
Figura 21: Equipamento para medição do ponto de fluidez. ....	74
Figura 22: Esquema do Equipamento Bomba Rotatória.....	75
Figura 23: Equipamento para determinação do OSI. ....	79
Figura 24: Aparato para decomposição térmica por refluxo. ....	80

Figura 25: Placa de TLC mostrando os produtos das reações de transesterificação com TMP.....	90
Figura 26: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).....	91
Figura 27: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar). ....	92
Figura 28: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).....	92
Figura 29: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).....	93
Figura 30: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).....	93
Figura 31: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar). ....	94
Figura 32: Cromatogramas das reações de transesterificação com enzima Lipomod 34P: Pinhão manso 96h 1500ppm (vermelho), Mamona 120h 1430ppm (verde) e Soja 96h 1488ppm (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C <sub>água</sub> =12%, C <sub>enzima</sub> =0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).....	95
Figura 33: Placa de TLC mostrando produtos formados pela reação do biodiesel metílico de soja com TMP utilizando a enzima Lipomod 34P, sem o uso de vácuo (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%).....	97
Figura 34: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Lipomod 34P. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	99
Figura 35: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Lipozyme RM IM. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%).....	99

Figura 36: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Novozym 435. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%).	100
Figura 37: Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P.	101
Figura 38: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P.	102
Figura 39: Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de pinhão manso e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Novozym 435.	103
Figura 40: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de pinhão manso e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Novozym 435.	104
Figura 41: Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P, sob vácuo.	105
Figura 42: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P, sob vácuo.	106
Figura 43: Gráfico de Pareto para os experimentos com 72 horas.	112
Figura 44: Gráfico de Pareto para os experimentos com 100 horas.	116
Figura 45: Evolução da conversão da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C <sub>água</sub> =1,0%, C <sub>enzima</sub> =4,0%) ao longo do tempo.	117
Figura 46: Determinação da taxa de conversão da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C <sub>água</sub> =1,0%, C <sub>enzima</sub> =4,0%) ao longo do tempo.	118
Figura 47: Distribuição de massa média do ricinoleato de metila nas 12 frações.	120
Figura 48: Diagrama do método de extração contracorrente com as fases hexano.	123
Figura 49: Diagrama do método de extração contracorrente com as fases metanol.	123
Figura 50: Cromatograma do produto referente ao primeiro dia da oxidação do MeLi através de oxidação de superfície.	126
Figura 51: Valores de IP da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.	127

<b>Figura 52: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.....</b>	<b>127</b>
<b>Figura 53: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.....</b>	<b>128</b>
<b>Figura 54: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.....</b>	<b>128</b>
<b>Figura 55: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C...</b>	<b>130</b>
<b>Figura 56: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C..</b>	<b>131</b>
<b>Figura 57: Valores de IP da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.....</b>	<b>132</b>
<b>Figura 58: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.....</b>	<b>133</b>
<b>Figura 59: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.....</b>	<b>133</b>
<b>Figura 60: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.....</b>	<b>134</b>
<b>Figura 61: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.....</b>	<b>135</b>
<b>Figura 62: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.....</b>	<b>135</b>
<b>Figura 63: Valores de IP da amostra contendo MeR + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.....</b>	<b>137</b>
<b>Figura 64: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.....</b>	<b>137</b>
<b>Figura 65: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.....</b>	<b>138</b>

Figura 66: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias. ....	138
Figura 67: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeO (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.....	139
Figura 68: Moléculas dos compostos Triacetina e Acetil-TMP.....	141
Figura 69: Espectro de RMN do Acetil-TMP (Anidrido Acético/TMP=6,125:1, T=140°C, 2 horas) em CDCl <sub>3</sub> .....	142
Figura 70: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Triacetina.....	143
Figura 71: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Triacetina. ....	143
Figura 72: Curva TGA – Derivada Massa x Temperatura para o composto Triacetina.....	144
Figura 73: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Acetil-TMP. ....	144
Figura 74: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Acetil-TMP. ...	145
Figura 75: Curva TGA – Massa x Temperatura para os compostos Triacetina/Acetil-TMP.....	145
Figura 76: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Triacetina a 160°C..	146
Figura 77: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Triacetina a 160°C.....	147
Figura 78: Curva TGA – Derivada Massa x Temperatura para o composto Triacetina a 160°C. ....	147
Figura 79: Curva de decomposição térmica da Triacetina a 170°C.....	149
Figura 80: Curva de decomposição térmica do Acetil-TMP a 170°C.....	149

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Classificação API dos óleos básicos. ....	7
Tabela 2: Composição em ácidos graxos do óleo de mamona. ....	60
Tabela 3: Características Físico-Químicas Típicas do Óleo de Mamona. ....	61
Tabela 4: Composição em ácidos graxos do óleo de soja. ....	63
Tabela 5: Composição em ácidos graxos do óleo de pinhão manso. ....	64
Tabela 6: Propriedades típicas da enzima Lipomod 34P (Biocatalysts) ....	65
Tabela 7: Propriedades típicas da enzima Novozym 435 (Novozymes) ....	66
Tabela 8: Propriedades típicas da enzima Lipozyme RM IM (Novozymes) ....	66
Tabela 9: Tabela ANOVA. ....	82
Tabela 10: Tabela ANOVA. ....	85
Tabela 11: Variáveis e respectivos níveis do planejamento fatorial. ....	86
Tabela 12: Ordem das reações do planejamento fatorial $3^{4-1}$ . ....	88
Tabela 13: Atividades das lipases estudadas. ....	89
Tabela 14: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	97
Tabela 15: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	98
Tabela 16: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	98
Tabela 17: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de soja (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	107
Tabela 18: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de pinhão manso (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	107
Tabela 19: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de mamona (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C <sub>água</sub> =14,85%, C <sub>enzima</sub> =4,0%). ....	107
Tabela 20: Planejamento fatorial $3^{4-1}$ com 72 horas de reação. ....	110
Tabela 21: Tabela ANOVA para os experimentos com 72 horas. ....	111
Tabela 22: Efeitos para os experimentos com 72 horas. ....	111
Tabela 23: Coeficientes de regressão para os experimentos com 72 horas. ....	112
Tabela 24: Planejamento fatorial $3^{4-1}$ com 100 horas de reação. ....	114
Tabela 25: Tabela ANOVA para os experimentos com 100 horas. ....	115
Tabela 26: Efeitos para os experimentos com 100 horas. ....	115



<b>Tabela 27: Coeficientes de regressão para os experimentos com 100 horas. ....</b>	<b>116</b>
<b>Tabela 28: Rendimentos e grau de pureza das cinco bateladas de ricinoleato de metila. ....</b>	<b>119</b>
<b>Tabela 29: Composição das fases para cada etapa da extração (a fase hexano da primeira separação foi conduzida para os funis de separação subsequentes).....</b>	<b>121</b>
<b>Tabela 30: Composição das fases para cada etapa da extração (a fase metanol da primeira separação foi conduzida para os funis de separação subsequentes).....</b>	<b>122</b>
<b>Tabela 31: Valores de IP das amostras oxidadas ao longo do tempo. ....</b>	<b>124</b>
<b>Tabela 32: IP e teor de linoleato de metila não oxidado das amostras oxidadas ao longo do tempo. ....</b>	<b>125</b>
<b>Tabela 33: IP e teor de linoleato de metila não oxidado das amostras oxidadas ao longo do tempo, empregando-se sílica gel purificada. ....</b>	<b>125</b>
<b>Tabela 34: Estabilidade oxidativa relativa dos compostos MeLi e 12Ac. ....</b>	<b>131</b>
<b>Tabela 35: Estabilidade oxidativa relativa dos compostos MeLi e 12Ac. ....</b>	<b>136</b>
<b>Tabela 36: Horas OSI a 110°C para amostras replicadas de ésteres metílicos puros e em combinações. ....</b>	<b>140</b>

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**12Ac:** 12-Acetilricinoleato de metila

**AGRICE:** Agriculture pour la Chimie et L'Energie

**ANOVA:** Análise de variância

**AOCS:** American Oil Chemists' Society

**API:** American Petroleum Institute

**Asp:** Ácido aspártico

**ASTM:** American Society for Testing and Materials

**BHT:** 2,6-di-*tert*-butil-1-4-metilfenol

**C<sub>água</sub>:** Concentração de água

**CaL-B:** Lipase B de *Candida antarctica*

**CEC:** Co-Ordinating European Council

**CENPES:** Centro de Pesquisas

**C<sub>enzima</sub>:** Concentração de enzima

**CMMO :** Chemically Modified Mineral Oil

**CMVO:** Chemically Modified Vegetable Oil

**DNA:** Ácido desoxirribonucléico

**DSC:** Differential Scanning Calorimetry

**DTA:** Análise térmica diferencial

**DTG:** Termogravimetria derivada

**E.C.:** Enzyme Commission

**EP:** Extrema Pressão

**EUA:** Estados Unidos da América

**FAME:** Fatty Acid Methyl Ester

**FDA:** Foods and Drugs Administration

**FZG:** Forschungsstelle für Zahnräder und Getriebebau

**GC:** Cromatografia gasosa

**GC-MS:** Cromatografia gasosa acoplada a um detector de massa

**His:** Histidina

**HOSO:** High Oleic Soybean Oil

**HPE:** Hidrorefino e Processos Especiais

**HPLC:** High Performance Liquid Chromatography

**IAT :** Índice de acidez total

**INENICA:** Interactive European Network for Industrial Crops and their Applications

**IP:** Índice de Peróxido

**IQ:** Instituto de Química

**ISO:** International Organization for Standardization

**IT: Intermediário tetraédrico**  
**IV: Índice de Viscosidade**  
**LabIM: Laboratório de Biotecnologia Microbiana**  
**LPE: Lubrificantes e Produtos Especiais**  
**MeLi: Linoleato de metila**  
**MeO: Oleato de metila**  
**MeR: Ricinoleato de metila**  
**NABL: National Agriculture Based Lubricants Center**  
**Nox: Material não oxidado**  
**NPG: Neopentilglicol**  
**OECD: Organization for Economic Cooperation and Development**  
**OSI: Oxidation stability index**  
**OT: Oxidation time**  
**PAO: Polialfaolefina**  
**PDSC: Pressurized Differential Scanning Calorimetry**  
**PE: Pentaeritritol**  
**PEG: Polietilenoglicol**  
**PIO : Poly Internal olefin**  
**PPD: Pour point depressant**  
**PVC: Pressure-viscosity coefficient**  
**RMe: Biodiesel metílico**  
**RmL: Lipase de *Rhizomucor miehei***  
**RMN: Ressonância magnética nuclear**  
**RPVOT: Rotary Pressure Vessel Oxidation Test**  
**Ser: Serina**  
**SNCF : Société Nationale des Chemins de Fer**  
**TFOUT: Thin Film Oxygen Uptake**  
**TG: Termogravimetria**  
**TGA: Análise termogravimétrica**  
**TLC: Thin layer chromatography**  
**TMP: Trimetilolpropano**  
**UFRJ: Universidade Federal do Rio de Janeiro**  
**USDA: United States Department of Agriculture**  
**UTTO: Universal Tractor Transmission Oil**  
**UV: Ultravioleta**

## INTRODUÇÃO

Os primeiros óleos lubrificantes utilizados pelos seres humanos foram os óleos de origem animal e vegetal. No século XIX, triglicerídeos naturais foram gradualmente substituídos por lubrificantes derivados do petróleo, denominados óleos minerais. Estes últimos, por sua vez, estão sendo gradualmente substituídos por óleos sintéticos (obtidos através de reações químicas) devido aos padrões de qualidade cada vez mais rigorosos, nem sempre alcançados pelos óleos minerais convencionais, e aos requisitos mais restritos, impostos por legislações ambientais (BONDIOLI *et al*, 2003).

Os biolubrificantes são lubrificantes biodegradáveis obtidos, em geral, a partir de óleos vegetais. Os mesmos são utilizados em aplicações onde a possibilidade de vazamentos possa comprometer o meio-ambiente. O mercado mundial de lubrificantes acabados é da ordem de 35.000.000 toneladas por ano (LINDEMANN e GOSALIA, 2012), com os biolubrificantes representando cerca de 1% deste total (WHITBY, 2005). Enquanto o mercado de lubrificantes acabados de base mineral se encontra estagnado, os biolubrificantes vêm apresentando um crescimento médio de 10% ao ano nos últimos 10 anos (ERHAN *et al*, 2008).

A oleoquímica, no que diz respeito ao desenvolvimento de lubrificantes de origem vegetal, representa um dos principais elementos que constituem o grande desafio representado pela química dos bioprodutos. Todas as tecnologias necessárias para esmagamento das sementes, refino do óleo, fracionamento, e transformação química já estão disponíveis e conhecidas, devido ao fato de serem as mesmas utilizadas em tecnologia dos alimentos. Geralmente, o sistema industrial é organizado de tal forma que quatro unidades de processamento (esmagamento, refino, fracionamento e transformação química) são conduzidas de forma independente. Este tipo de organização permite uma grande flexibilidade e uma maior economia de escala. É justamente na etapa de transformação química que se localizam os maiores desafios para a produção de lubrificantes biodegradáveis (BONDIOLI, 2005).

Os lubrificantes, de uma forma geral, devem apresentar certas propriedades físico-químicas dentro de determinadas especificações, como por exemplo: viscosidade, índice de acidez, corrosividade, ponto de fluidez, etc. No caso dos biolubrificantes, geralmente constituídos por ésteres orgânicos, as estabilidades oxidativa, térmica e hidrolítica são essenciais, sendo a primeira uma das propriedades mais importantes no desenvolvimento de um lubrificante biodegradável. Entretanto, à medida que se sintetiza uma molécula altamente resistente à oxidação, com as duplas ligações removidas ou protegidas por impedimentos estéricos, deve-se levar em consideração que a ação dos micro-organismos responsáveis pela sua biodegradação

também será dificultada. Assim, o grande desafio reside no fato de se tentar encontrar um equilíbrio, ou seja, uma molécula que tenha alta resistência à oxidação e seja biodegradável (KOLWZAN e GRYGLEWICZ, 2003).

O desenvolvimento desta tese de doutorado tem como grande motivação a crescente valorização da biomassa como matéria-prima no Brasil e os bons resultados obtidos em reações idênticas de transesterificação de biodiesel para a síntese de biolubrificantes, empregando-se catálise química (SILVA, 2006). A escolha do ricinoleato de metila (biodiesel do óleo de mamona) como reagente de partida se fez em função de que, na época do início desta tese (2007), já existia um programa de produção de biodiesel a partir do óleo de mamona, além do fato deste composto ser mais facilmente transesterificado quando comparado ao óleo de mamona e ter apresentado resultados mais promissores do que os biodieseis de soja e de pinhão manso. A oferta deste produto e a sua valorização justificaram o seu uso como matéria-prima.

A partir dos resultados promissores da dissertação desenvolvida pelo autor em seu mestrado, tornou-se evidente que novas alternativas e oportunidades se delinearam para a produção de um biolubrificante.

Os ésteres do ácido ricinoléico têm sido sugeridos como potenciais biolubrificantes (AZEVEDO e LIMA, 2001; RUDNICK, 2006; BIROVÁ *et al*, 2002), porém a sua estabilidade oxidativa tem sido questionada, e os mesmos podem ser significativamente menos estáveis do que o oleato de metila (KNOTHE, 2008). Trabalhos preliminares confirmaram que o ricinoleato de metila é significativamente menos estável do que ésteres monoinsaturados, porém, se o grupo OH do carbono 12 do mesmo for esterificado, este éster pode ser consideravelmente mais estável à oxidação (YAO *et al*, 2010).

Os conhecimentos científico-tecnológicos sobre a produção e a utilização de lipases, acumulado nos laboratórios de biotecnologia microbiana (LabIM) do IQ/UFRJ, e sobre lubrificantes, da Gerência de Lubrificantes e Produtos Especiais (LPE) do CENPES/Petrobras, complementaram-se e forneceram ao autor referências seguras para a realização da sua tese.

A tese será apresentada conforme a seqüência abaixo:

- ✓ Os objetivos;
- ✓ Três capítulos em que se apresenta o estado da arte sobre biolubrificantes, lipases e matérias-primas para a produção de biolubrificantes (mamona, soja e pinhão manso);

- ✓ A metodologia utilizada para a realização das reações de síntese de biolubrificantes e caracterização físico-química dos mesmos;
- ✓ Os resultados obtidos;
- ✓ As conclusões;
- ✓ Os trabalhos publicados e as patentes geradas;
- ✓ As recomendações para trabalhos futuros.

## 1. OBJETIVOS

Este trabalho de pesquisa de doutorado visou estudar uma rota enzimática de transesterificação do ricinoleato de metila com o álcool trimetilolpropano (TMP) com o objetivo de se obter um biolubrificante ainda inédito no mercado.

Além da síntese de biolubrificantes via catálise enzimática, este trabalho também teve como objetivos o estudo e a otimização das estabilidades oxidativa e térmica dos ésteres do ácido ricinoléico e de outros ésteres biolubrificantes.

Como objetivos específicos, podem-se destacar:

- a) Seleção de enzimas comerciais mais adequadas;
- b) Determinação das melhores condições operacionais para a transesterificação enzimática do ricinoleato de metila com TMP, através de planejamento fatorial;
- c) Estudo de técnicas para determinação e melhoria da estabilidade oxidativa de biolubrificantes;
- d) Estudo da estabilidade térmica de biolubrificantes.

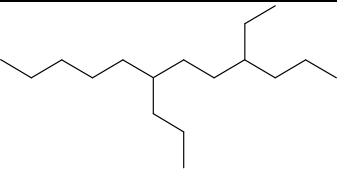
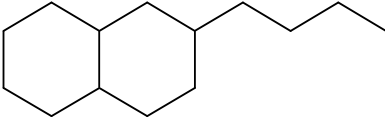
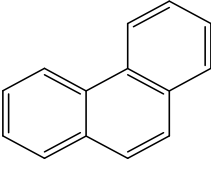
## 2. LUBRIFICANTES E BIOLUBRIFICANTES

### 2.1 Lubrificantes

O termo óleo se refere a uma ampla variedade de materiais líquidos com diferentes propriedades utilizados, comumente, na moderna tecnologia de equipamentos. Entre estes líquidos se destacam os óleos lubrificantes. Os óleos básicos são os constituintes de maior proporção na formulação dos óleos lubrificantes e são obtidos, em geral, através do processamento do petróleo. Eles podem ser classificados, primariamente, como minerais ou sintéticos, em função da fonte ou do processo pelo qual são produzidos (LASTRES, 2003). Os primeiros óleos lubrificantes conhecidos utilizados pelos seres humanos foram os óleos de base animal e vegetal. No século XIX, os triglicerídeos naturais foram gradualmente substituídos por lubrificantes derivados do petróleo, denominados óleos minerais. Em diversas aplicações dos óleos lubrificantes, os padrões de qualidade exigidos (como graus de viscosidade, resistência à oxidação, ponto de fluidez), cada vez mais rigorosos, nem sempre podem ser alcançados com o uso dos óleos minerais convencionais. Assim sendo, rotas alternativas de produção de óleos minerais vêm sendo desenvolvidas para a obtenção de produtos com maior durabilidade e menor impacto ambiental. Os óleos vegetais são mais baratos do que os minerais, além de serem obtidos de fontes renováveis.

Os óleos minerais são obtidos através da destilação e do refino do petróleo, sendo classificados como parafínicos ou naftênicos, dependendo do tipo de hidrocarboneto predominante em sua composição. Estes possuem em média 20 a 50 átomos de carbono por molécula e estas podem ser de cadeias parafínicas (alcanos lineares ou ramificados), naftênicas (cicloalcanos com cadeias laterais) ou aromáticas (principalmente alquil benzenos), conforme ilustrado na Figura 1 (CAINES e HAYCOCK, 1996).



Tipo de Óleo	Tipo de cadeias de carbono
Parafínicos	
Naftênicos	
Aromáticos	

**Figura 1: Estrutura da composição dos óleos minerais.**

Os óleos básicos parafínicos apresentam alto ponto de fluidez e elevado índice de viscosidade (IV) (propriedade que mede a variação da viscosidade com a temperatura). Em seu processo de produção, a etapa de desparafinação é indispensável e o produto, mesmo desparafinado, ainda precisa ser aditivado com um abaixador de ponto de fluidez para evitar o crescimento dos cristais de parafinas em baixas temperaturas e reduzir a temperatura de escoamento do produto.

Já os óleos de características naftênicas apresentam teores relativamente mais altos (do que os parafínicos) de carbonos em cadeias cíclicas (naftênicas). O corte de um cru naftênico apresenta teores muito baixos de parafinas lineares e não precisa ser desparafinado. Seu ponto de fluidez (será definido mais adiante) pode chegar a  $-51\text{ }^{\circ}\text{C}$  (óleo básico NH-10). Por outro lado, apresenta valores baixos de IV (índice de viscosidade), o que torna difícil a sua aplicação na formulação de óleos para motores, sendo mais utilizados nas formulações de óleos de corte, óleos para amortecedores e como óleo isolante para transformadores elétricos. Os óleos de característica aromática encontram aplicações como óleos extensores na indústria de borracha (DO BRASIL *et al*, 2011).

Os óleos básicos minerais podem ser também classificados pelo tipo de processo de obtenção. O mais tradicional é a extração por solventes, chamado de processo convencional, no qual compostos indesejáveis como os poliaromáticos e os compostos contendo heteroátomos, como o nitrogênio e o enxofre, são removidos, aumentando-se o índice de viscosidade e melhorando-se a estabilidade dos produtos. Este processo também inclui etapas de desparafinação, utilizada para enquadrar o ponto de fluidez, e de hidroacabamento para o enquadramento final do produto nas especificações. O processo chamado de não convencional inclui etapas mais severas

de hidrocraqueamento, onde as moléculas são craqueadas, saturadas e isomerizadas, obtendo-se produtos de elevada estabilidade e índice de viscosidade (DO BRASIL *et al*, 2011).

Por outro lado, os óleos básicos sintéticos são produzidos por meio de reações químicas, onde se busca obter produtos com propriedades adequadas às funções lubrificantes. Cerca de 80% do mercado mundial de lubrificantes sintéticos é composto por: polialfaolefinas (45%), ésteres orgânicos (25%) e poliglicóis (10%) (MURPHY *et al*, 2002). Dentre os básicos sintéticos empregados, o de maior uso é a polialfaolefina, e, em geral, os básicos sintéticos têm como vantagens sobre os básicos minerais, as maiores estabilidades térmica e oxidativa, melhores propriedades a baixas temperaturas e menor volatilidade. Em contrapartida, os básicos minerais apresentam menor custo comparativamente aos sintéticos.

Nas aplicações em que se necessita que o produto apresente um elevado nível de biodegradabilidade, este requisito só pode ser atingido através do uso de bases sintéticas de origem vegetal.

Com relação aos óleos automotivos, o American Petroleum Institute, API, classifica os óleos básicos em cinco categorias, conforme ilustrado na Tabela 1.

**Tabela 1: Classificação API dos óleos básicos.**

CATEGORIA	SATURADOS ( <sup>1</sup> )		ENXOFRE, %P ( <sup>2</sup> )	ÍND. VISCOSIDADE ( <sup>3</sup> )
GRUPO I	< 90	e / ou	> 0,03	80 - 120
GRUPO II	≥ 90	e	≤ 0,03	80 - 120
GRUPO III	≥ 90	e	≤ 0,03	> 120
GRUPO IV	POLI-ALFAOLEFINAS (PAO)			
GRUPO V	OUTROS ÓLEOS BÁSICOS NÃO INCLUÍDOS NOS GRUPOS I, II, III e IV			

LUBRIZOL, 2002.

(<sup>1</sup>) ASTM D 2007

(<sup>2</sup>) ASTM D 2622 ou ASTM D 4294 ou ASTM D 4927 ou ASTM D 3120

(<sup>3</sup>) ASTM D 2270

O desempenho dos lubrificantes é avaliado por sua habilidade de reduzir o atrito, resistir à oxidação, minimizar a formação de depósitos, e impedir a corrosão e o desgaste. A maioria dos problemas associados aos lubrificantes está relacionada à degradação do óleo e a sua contaminação com os subprodutos da combustão no cárter (automotivos). Desse modo, as causas principais do mau funcionamento do motor devido à qualidade do lubrificante se traduzem em formação de depósito,

aumento de viscosidade, consumo elevado, aprisionamento de peças, corrosão e desgaste (ARAÚJO, 2003).

A formação de depósitos ocorre quando o poder detergente/dispersante do óleo lubrificante não é suficiente para manter os contaminantes em suspensão. Já o espessamento do óleo é, em geral, resultante da oxidação do lubrificante e do acúmulo dos materiais insolúveis. A viscosidade aumenta devido à polimerização de compostos oxigenados e à manutenção em suspensão de produtos insolúveis, derivados da queima não completa de combustíveis. O teor de enxofre presente no óleo diesel pode causar corrosão e desgaste corrosivo de cilindros e anéis, em função do ataque de ácidos do enxofre ou de ácidos orgânicos às superfícies ferrosas. Este tipo de desgaste é controlado pela utilização de lubrificantes com uma boa reserva alcalina (quantidade de aditivos de caráter básico necessários para neutralização de compostos ácidos que estejam presentes no lubrificante) (LASTRES, 2003).

Para minimizar tais inconvenientes, os óleos lubrificantes são obtidos através da mistura de óleos básicos e aditivos com funções antioxidante, antidesgaste, detergente/dispersante, dentre outras. Deste modo, projetar um lubrificante para executar estas funções é uma tarefa complexa, envolvendo uma avaliação cuidadosa das propriedades do óleo básico e dos aditivos que serão empregados.

## **2.2 Biolubrificantes**

Segundo LÄMSA (1995), o desenvolvimento dos ésteres sintéticos para uso como lubrificantes teve início na década de 30 nos EUA e na Alemanha. Na Alemanha, deveu-se, principalmente, à segunda guerra mundial e ao déficit na produção de petróleo. Foram desenvolvidos na Alemanha diésteres e poliolésteres, sendo utilizados, primeiramente, como lubrificantes de turbinas de aviões. Seus benefícios eram boas propriedades a baixas temperaturas e resistência à oxidação térmica. Desde 1960, a indústria aeronáutica tem utilizado neopentil-poliolésteres como lubrificantes para motores de jatos. Sua característica importante reside na sua flexibilidade de propriedades físicas e químicas, obtidas por meio de mudanças na estrutura química das matérias-primas, como comprimento da cadeia, ramificação, número de átomos de carbono e tipo de álcool utilizado na síntese.

Nos anos 60, ésteres sintéticos para lubrificantes foram desenvolvidos para condições árticas, funcionando como óleos de motor, transmissão e engrenagens, além de fluidos hidráulicos e graxas. Nos anos 70, vieram os óleos para motores automotivos, iniciando com os óleos semi-sintéticos, incluindo di-ésteres. Os principais benefícios foram boas propriedades a baixas temperaturas e baixa volatilidade. O

primeiro óleo de motor sintético contendo ésteres foi lançado em 1977, sendo constituído principalmente por polialfaolefinas. O primeiro óleo de motor náutico 2 tempos baseado em ésteres sintéticos foi lançado em 1982 na Suíça e no sul da Alemanha. O fluido base principal era neopentil-poliolésteres de ácidos graxos ramificados (LÄMSA, 1995).

Um biolubrificante significa um lubrificante que é biodegradável. Por sua vez, uma substância ser biodegradável significa que a mesma tem a capacidade comprovada de ser decomposta, em um intervalo de até 1 ano, por meio de processos biológicos naturais em terra carbonácea, água ou dióxido de carbono (WHITBY, 2005).

Em termos gerais, biodegradabilidade significa a tendência de um lubrificante ser metabolizado por microrganismos em até 1 ano. Quando ela é completa, significa que o lubrificante retornou essencialmente à natureza, e quando é dita parcial, indica que um ou mais componentes do lubrificante não são degradáveis.

As normas e padrões de biodegradabilidade e toxicidade são diferentes nos países. Por exemplo, na Alemanha as especificações para lubrificantes biodegradáveis são bem mais rigorosas do que na Suíça. A biodegradabilidade resulta em auto-decomposição por meio de micro-organismos em produtos não tóxicos (CO<sub>2</sub> e água). A forma pela qual os micro-organismos executam isto depende largamente das suas estruturas. A maior parte dos fluidos hidráulicos com base vegetal é prontamente biodegradável. A biodegradabilidade relativa de lubrificantes é medida pelo método CEC-L-33-A-94. Os óleos vegetais são tipicamente 99% biodegradáveis, caindo, usualmente, para 90-98% após a mistura com aditivos. Por outro lado, a biodegradabilidade dos óleos minerais é de apenas 20% (MAKKONEN, 1994).

As primeiras leis sobre lubrificantes biodegradáveis foram publicadas em Portugal em 1991 pelo Ministério de Meio Ambiente. Elas obrigavam o uso destes lubrificantes em óleos de motores náuticos 2 tempos, cuja biodegradabilidade deveria ser de no mínimo 66%, de acordo com o teste CEC-L-33-T-82. Este teste foi o primeiro desenvolvido para biodegradação de lubrificantes. Testes OECD também têm sido utilizados desde o início dos anos 90 (LÄMSA, 1995).

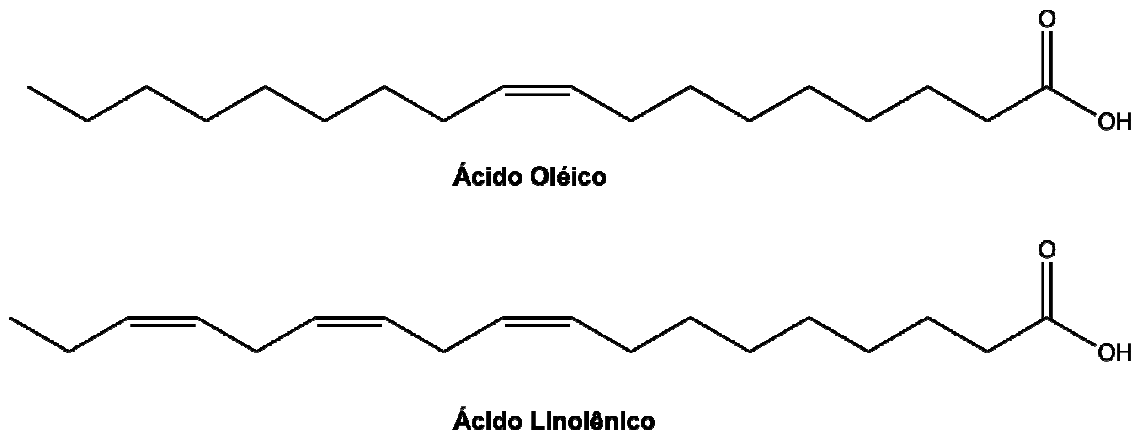
A etapa seguinte, a partir dos óleos para motor 2 tempos, foi o desenvolvimento de óleos biodegradáveis para motosserras. Estes foram lançados em meados da década de 80. Os primeiros produtos eram baseados em ésteres naturais, triglicerídeos de óleo de canola. A partir desta década, surgiram outras aplicações para estes produtos, sendo as principais: fluidos hidráulicos, fluidos de corte, óleos para rolamentos, óleos de turbina, óleos para engrenagens industriais e óleos para compressores. Outras áreas de aplicação são indústrias de cosméticos, têxteis e fibras, líquidos de troca térmica e indústrias de plásticos. Os ácidos graxos para os

ésteres sintéticos eram oriundos de óleos vegetais ou de gordura animal. Ácidos graxos puros ou purificados eram obtidos a partir de fracionamento, destilação, craqueamento, desparafinação, etc. Já os alcoóis podem variar de alcanóis de cadeia curta até polióis. Em 1989, foi inventado o primeiro óleo de turbina baseado em trimetilolpropano e monoeritrol (LÄMSA, 1995).

Nos anos 90, várias companhias americanas seguiram uma tendência já existente na Europa de estarem em acordo com as regulações ambientais (HONARY, 2009). Entre elas se destaca a Lubrizol Co, de Ohio, a qual investiu quantidades significativas de pesquisa e desenvolvimento para criar uma série de aditivos altamente efetivos, obtidos a partir de óleo de girassol com alto teor de ácido oléico. Nesta mesma época, foi criado o centro de pesquisas especializado em biolubrificantes da University of Northern Iowa, o NABL (National Ag-Based Lubricants Center), resultando no desenvolvimento e patente do primeiro fluido hidráulico de trator com base em óleo de soja.

Durante vários anos, a ASTM (American Society for Testing and Materials) esteve envolvida em tentativas de definir o termo biodegradabilidade, uma vez que este era o foco principal destes produtos. Isto resultou em um atraso no desenvolvimento de padrões. Além disso, a ênfase em compatibilidade ambiental significava menos ênfase nos aspectos econômicos destes produtos, e, em alguns casos, no seu desempenho. Como resultado, os primeiros produtos apresentaram custo elevado e/ou baixo desempenho. Mesmo assim, os mesmos encontravam um nicho de mercado. No final dos anos 90, entretanto, muitas companhias americanas reduziram ou eliminaram os seus projetos “verdes” e as pesquisas continuaram apenas em laboratórios acadêmicos e governamentais.

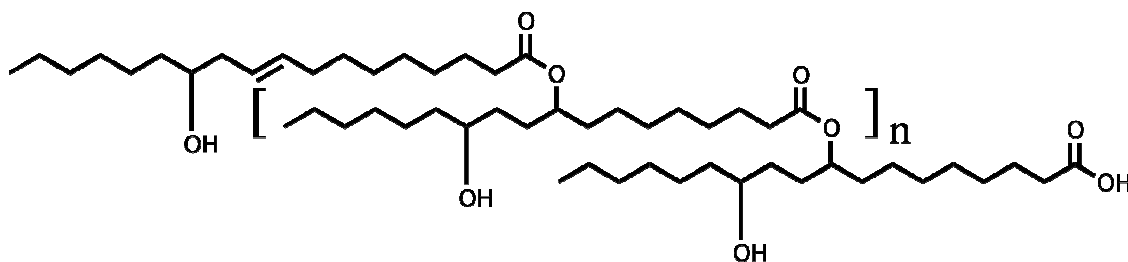
A tecnologia inicial para biolubrificantes foi baseada em óleos vegetais, os quais foram submetidos a mínimos tratamentos químicos e aos quais foram adicionados aditivos para aumento de desempenho. Talvez o mais importante desenvolvimento para os biolubrificantes norte-americanos foi a introdução da soja com alto teor de ácido oléico pela Dupont Co., no início dos anos 90. O óleo desta soja geneticamente modificada tinha um perfil de ácidos graxos consideravelmente superior ao dos óleos de soja convencionais (mais rico em ácido oléico). O óleo de soja com alto teor de ácido oléico, por exemplo, tinha teores de ácido oléico, em massa, superiores a 80% e de linolênico menores que 3%, quando comparado com 20% de ácido oléico e 8% de linolênico, respectivamente, de óleos de soja típicos (HONARY, 2009). As estruturas destes ácidos graxos podem ser vistas na Figura 2.



**Figura 2: Moléculas dos ácidos oléico e linolênico.**

Originalmente projetado para óleo de fritura, este óleo mostrou uma estabilidade oxidativa aproximadamente 27 vezes maior do que o óleo de soja convencional. Esta característica ajudou no desenvolvimento de um grande número de lubrificantes e graxas altamente bem sucedidos (HONARY, 2009).

Apesar de óleos com alto teor de ácido oléico solucionarem, na maioria dos casos, o problema da estabilidade oxidativa, muitos destes produtos necessitavam serem misturados com outros óleos (em geral, sintéticos) para melhorar o seu ponto de fluidez. Além disso, no caso de lubrificantes utilizados em aplicações externas, havia a necessidade de misturá-los com vários ésteres de elevado custo, os quais algumas vezes afetam de forma negativa a compatibilidade do produto final com os elastômeros (presentes nas juntas de vedação do equipamento a ser lubrificado). Como resultado, têm ocorrido desenvolvimentos recentes, incluindo a criação de óleos vegetais modificados quimicamente, os quais permitem uma maior flexibilidade no uso de qualquer óleo vegetal como base, além de melhorarem os desempenhos tanto em termos de oxidação quanto em termos de estabilidade ou fluidez a baixas temperaturas. Os “estolides” (Figura 3) são um exemplo destas novas técnicas de modificação química. Estes compostos são criados por meio da ligação química de diferentes ácidos graxos insaturados. Estes compostos apresentaram baixos pontos de fluidez (-40°C) e alta estabilidade oxidativa no ensaio RPVOT (será descrito adiante) (200 a 400 minutos) (HONARY, 2009).



**Figura 3: Molécula genérica de um “estolide”.**

A popularidade dos biocombustíveis nos últimos anos tem resultado em um investimento significativo de capital público e privado no desenvolvimento de oleaginosas (RUDNICK, 2006). Apesar das diferenças no uso final, muitos das oleaginosas e dos processos desenvolvidos para biocombustíveis têm aplicações em biolubrificantes.

Nos últimos 30 anos, a viabilidade comercial e o desempenho técnico e econômico dos biolubrificantes têm sido estabelecidos. Devido à demanda por petróleo e à atenção ao “carbon footprint” ou pegada de carbono dos produtos industrializados, deverá haver um contínuo desenvolvimento e melhoria dos bioprodutos. As tecnologias futuras deverão incluir os óleos vegetais convencionais e os ricos em ácido oléico geneticamente modificados, além dos ésteres mais sofisticados, econômicos e quimicamente modificados, derivados de uma variedade crescente de matérias-primas. Estes possíveis desenvolvimentos não substituirão completamente o uso do petróleo nos lubrificantes automotivos e industriais, mas atingirão uma parcela significativa destes mercados lucrativos (RUDNICK, 2006).

A última década tem presenciado um movimento lento, mas constante, em direção ao uso de lubrificantes ambientalmente compatíveis ou mais prontamente biodegradáveis. A biodegradabilidade tem se tornado um dos mais importantes parâmetros de projeto para a seleção de óleos básicos e para a formulação de óleos acabados. Um fluido lubrificante “mais prontamente biodegradável” é aquele que, por meio de métodos e ensaios padrões, é convertido a compostos de massa molar mais baixa, os quais não apresentam impacto ambiental. A taxa na qual lubrificantes e outros produtos químicos ou aditivos sofrem biodegradação está relacionada com as suas estruturas químicas. Estas estruturas químicas afetam as suas propriedades, muitas das quais afetam o desempenho nos vários testes de biodegradabilidade. Por exemplo, a solubilidade em água é crítica em alguns testes de biodegradabilidade, enquanto que a toxicidade é muito importante, pois se o lubrificante é tóxico e reduz a população de organismos, então isto afetará direta e negativamente o processo de biodegradação (RUDNICK, 2006).

A demanda por lubrificantes biodegradáveis é devida a uma conscientização crescente do impacto das tecnologias sobre o meio ambiente. Esta conscientização está ocorrendo tanto como um resultado de uma combinação de regulações locais e nacionais, quanto como um resultado da influência dos consumidores. Países europeus, especificamente Alemanha, Áustria e os países da Escandinávia, têm conduzido grandes esforços nesta área.

Há um grande esforço na Europa no sentido de se explorar materiais de origem agrícola. A IENICA (Rede Interativa para Culturas Agrícolas e Aplicações) é composta por 14 países com o objetivo de criar uma sinergia com a indústria de culturas agrícolas industriais da União Européia, desenvolvendo oportunidades científicas, industriais e de mercado para aplicações destas culturas (HONARY, 2009). Uma das principais áreas de aplicação atendidas por estes esforços é a de lubrificantes. A natureza ambientalmente compatível dos lubrificantes com base em óleos vegetais e os seus benefícios de marketing têm provocado o envolvimento de várias companhias. Por exemplo, a Mobil Chemical implementou uma linha limpa de produção de lubrificantes como parte do programa AGRICE (Agricultura para Química e Energia). A Shell e a British Petroleum firmaram um acordo com a SNCF (Companhia de Trens da França) para o desenvolvimento de lubrificantes biodegradáveis. Esforços adicionais foram feitos no desenvolvimento de aplicações de óleos vegetais na desmoldagem de concreto. Em 2002, o mercado total de lubrificantes da Europa Ocidental era de 5.020.000 t/ano, das quais 50.000 t/ano eram baseados em óleos vegetais. Por outro lado, o mercado norte americano de lubrificantes é de 8.250.000 t/ano e apenas 25.000 t/ano são baseados em óleos vegetais (HONARY, 2009).

A diminuição nas reservas mundiais de petróleo, bem como as incertezas no tocante ao seu suprimento devido a razões políticas e econômicas, estimularam a busca por fontes de energia alternativas. Recentemente, a conscientização com o meio ambiente e a poluição tem se tornado um tópico de grande importância devido a perdas acidentais ou deliberadas de lubrificante para o meio ambiente, incluindo evaporação, vazamentos e derramamentos. Desta forma, especificações mais rígidas em vários assuntos ambientais, tais como biodegradabilidade, toxicidade, saúde ocupacional e segurança e emissões, têm se tornado mandatórias em certas áreas de aplicação (RUDNICK, 2006).

Os óleos vegetais já são utilizados como lubrificantes, devido a sua lubricidade superior, boas propriedades anticorrosivas, melhores características viscosidade-temperatura e baixa evaporação, em aplicações industriais como enrolamentos, cortes, desenhos e operações de “quenching”, tanto puros como em mistura com óleos minerais. Além disso, estes óleos são prontamente biodegradáveis e



ambientalmente seguros, quando comparados aos óleos minerais, devido aos ácidos graxos em sua composição. Algumas outras vantagens dos óleos vegetais incluem o fato de serem obtidos de fontes renováveis e de não apresentar dependência de óleos estrangeiros. Do ponto de vista ambiental, a importância deles é evidente, sobretudo em áreas de lubrificação com perda total, aplicações militares, e em atividades ao ar livre, como áreas florestais, mineração, estradas de ferro, pesca, escavações e sistemas hidráulicos agrícolas. Entretanto, o uso extensivo de óleos vegetais é restrito devido ao seu desempenho ineficiente em baixas temperaturas e baixas estabilidades hidrolítica e termo-oxidativa, as quais podem ser mitigadas por meio de modificações na estrutura do óleo (GOYAN *et al*, 1998).

Óleos básicos sintéticos oferecem melhores características de estabilidade e desempenho do que óleos minerais. A maioria dos óleos sintéticos biodegradáveis são ésteres químicos que oferecem estabilidades térmica e oxidativa superiores. Os preços para este nicho de produtos são maiores do que o dos óleos vegetais e significativamente maiores do que os dos lubrificantes de base mineral. Apesar do custo dos lubrificantes com base em óleos vegetais ser maior do que o dos de base mineral, vantagens ambientais em curto, médio e longo prazo podem balancear esta diferença de custo. Além disso, a escolha de biolubrificantes contribui para a imagem pública da companhia (ISO 14000) e com isto abre a possibilidade da conquista de novos mercados (GUNDERSON e HART, 1962; RUDNICK e SHUBKIN, 1999).

### **2.3 Química da Obtenção dos Biolubrificantes**

Na produção de ésteres simples a partir de alcoóis de cadeia curta, como metanol, etanol ou butanol e triglicerídeos de origem natural, os catalisadores mais utilizados são hidróxido de sódio ou potássio, hidróxidos e alcóxidos de metais, carbonatos, acetatos e diferentes ácidos. Uma produção viável economicamente de monoésteres em escala industrial deve atender, no mínimo, aos seguintes critérios: bom rendimento, poucos subprodutos, balanço energético favorável, pequeno impacto no meio ambiente e simplicidade. Apenas poucos dos inúmeros processos publicados, de fato, atendem esses requisitos (LÄMSA, 1995).

Os principais tipos de ésteres utilizados como biolubrificantes são: diésteres, ftalatos, trimetilatos, C<sub>36</sub> dimeratos e ésteres de polioliol ou polioliésteres. As principais aplicações dos ésteres são: óleo de motor, óleo de motor 2 tempos, óleo de compressor, óleos de refrigeração, lubrificantes para aviação e fluidos hidráulicos.

Os diésteres são produzidos pela reação química entre dois alcoóis monohídricos e um ácido dicarboxílico ou um diol e um ácido monocarboxílico. Por

exemplo, os ácidos azelaico, sebácico e málico são bastante utilizados como diácidos. Já os alcoóis mais utilizados são 2-etilhexanol, álcool iso-tridecílico e uma mistura de alcoóis de C8 a C10. Os diésteres são utilizados em turbinas a gás, compressores, fluidos hidráulicos e óleos de motor 2 tempos. Os primeiros lubrificantes utilizados em turbinas a gás foram os dioctilsebacatos. Em seguida, estes foram substituídos por azelatos e adipatos, e mais recentemente, por poliolésteres. Os diésteres apresentam excelentes propriedades a baixas temperaturas e alto índice de viscosidade (LÄMSA, 1995).

Os poliolésteres são produzidos na reação entre alcoóis polihídricos e ácidos mono ou dicarboxílicos. Eles também são denominados ésteres impedidos. Esta classe de produtos oferece extraordinária estabilidade devido à ausência de um hidrogênio secundário na posição  $\beta$  e à presença de um átomo central de carbono quaternário (WAGNER *et al*, 2001). Os polialcoóis mais utilizados são trimetilopropano (TMP), neopentilglicol e pentaeritritol. Os ácidos utilizados na síntese de poliolésteres podem ser de cadeia longa ou curta, saturada ou insaturada e linear ou ramificada. As seguintes características dos reagentes de partida afetam as propriedades do éster resultante: massa molar, o tamanho dos grupos acila, a funcionalidade dos polióis e o método de preparação do éster ou da mistura de ésteres. Os poliolésteres são utilizados em turbinas de aviões e na formulação de óleos para motores automotivos.

Segundo RUDNICK, 2006, os ácidos graxos são essencialmente ácidos alifáticos de cadeia longa, não ramificada, com os átomos de carbono ligados a hidrogênio e outros grupos, e com a cadeia terminando com um ácido carboxílico. Os ácidos graxos mais comuns na natureza têm um número par de átomos de carbono em sua cadeia linear, variando de 14 a 22, sendo os com 16 ou 18 os mais abundantes. O grupo polar COOH é suficiente para fazer com que os ácidos graxos de cadeia curta sejam miscíveis em água. À medida que a cadeia aumenta, o ácido graxo se torna progressivamente menos miscível em água, assumindo características mais anfífilas. Em pontos onde átomos de carbono adjacentes perdem átomos de hidrogênio, estes apresentam uma dupla ligação ao invés de uma ligação simples. Se estas ligações duplas ocorrem em múltiplos carbonos (até um máximo de 6) o ácido graxo é poliinsaturado. Ácidos graxos insaturados têm menores pontos de fusão do que saturados, e são mais abundantes nos organismos vivos.

Se três ácidos graxos se ligam a três grupos OH de um álcool (como da glicerina), o composto resultante é conhecido como triacilglicerol. Similarmente, quando um ou dois grupos de OH são esterificados com álcool, monoacilgliceróis e diacilgliceróis são formados, respectivamente. Óleos vegetais são constituídos por

triacilgliceróis (98%), com pequenas quantidades de diacilgliceróis (0,5%), ácidos graxos livres (0,1%), esteróis (0,3%) e tocoferóis (0,1%) (LAVATE *et al*, 1997).

Há uma relação entre o grau de linearidade da estrutura do ácido graxo e as propriedades e desempenho desta estrutura. É uma consequência direta da estrutura curva exibida por um ácido graxo que contém insaturação *cis* (como no caso dos óleos vegetais), o que contribui para a natureza líquida do óleo. Um óleo vegetal que contém apenas ácidos graxos saturados lineares ou uma alta porcentagem dos mesmos é, em geral, sólido à temperatura ambiente. Uma consequência disto é que estes materiais não apresentam benefícios como lubrificantes que necessitem ser utilizados em aplicações que apresentem uma ampla variação de temperatura.

Isto não ocorre apenas com óleos vegetais e ácidos graxos. Outros lubrificantes, como polialfaolefinas, têm suas propriedades a baixas temperaturas derivadas do fato de que estes fluidos são misturas de várias isoparafinas. Uma mistura similar de parafinas não ramificadas (lineares) não apresentaria boas propriedades a baixas temperaturas, pois as mesmas solidificam ou gelificam em baixas temperaturas (RUDNICK e SHUBKIN, 1999).

Por exemplo, se os ácidos graxos predominantes em um óleo vegetal particular são saturados, o desempenho em baixas temperaturas será pior em relação a óleos vegetais que contenham predominantemente ácidos graxos mono ou poliinsaturados.

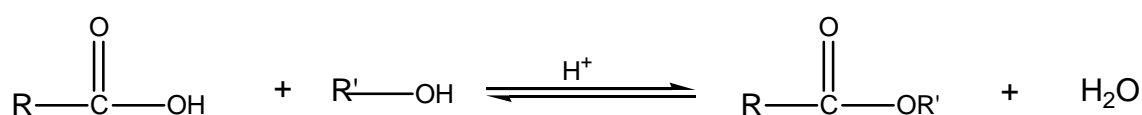
O óleo de soja ocupa a primeira colocação na produção mundial de óleos vegetais (29%) e representa uma importante fonte renovável. Nos EUA, a sua produção é de 2,5 bilhões de galões por ano, enquanto que a produção mundial é de cerca de 6 bilhões de galões por ano. O óleo de soja cru tem uma viscosidade próxima a de um óleo mineral (29 cSt a 40°C), um alto ponto de fulgor (325°C) e um alto IV (246). Todos os óleos vegetais crus contêm alguns elementos naturais, tais como matéria não saponificada, goma e matéria graxa, os quais podem interferir na estabilidade, na solubilidade em hidrocarbonetos, nas reações químicas e no ponto de fluidez. Desta forma, é necessária uma etapa de purificação para a obtenção de óleos vegetais refinados. Entretanto, para modificar a cadeia do ácido graxo do óleo vegetal, é necessário conhecer com exatidão a composição do mesmo, além de suas estabilidades térmica e oxidativa. A estrutura de triacilglicerol forma a espinha dorsal da maioria dos óleos vegetais, estando as mesmas associadas com as diferentes cadeias de ácidos graxos. A presença de insaturações na molécula de triacilglicerol (ácido oléico, linoléico e linolênico), funciona como sítios ativos para várias reações de oxidação. Ácidos graxos saturados têm uma estabilidade oxidativa relativamente mais alta (RUDNICK, 2006).

Mais de 90% das modificações químicas ocorrem nos grupos carboxílicos dos ácidos graxos, enquanto menos de 10% envolvem reações na cadeia do ácido graxo. Sem sacrificar as características favoráveis de viscosidade-temperatura e de lubricidade, óleos vegetais insaturados podem ser convertidos em produtos estáveis termo-oxidativamente, por meio da saturação das duplas ligações carbono-carbono utilizando reações de arilação, alquilação, ciclização, hidrogenação, epoxidação, entre outras. Modificações químicas no grupo carboxila dos óleos vegetais incluem reações de interesterificação, transesterificação e hidrólise (RICHTLER e KNAUT, 1984).

### 2.3.1 Reações nos grupos carboxila dos óleos vegetais

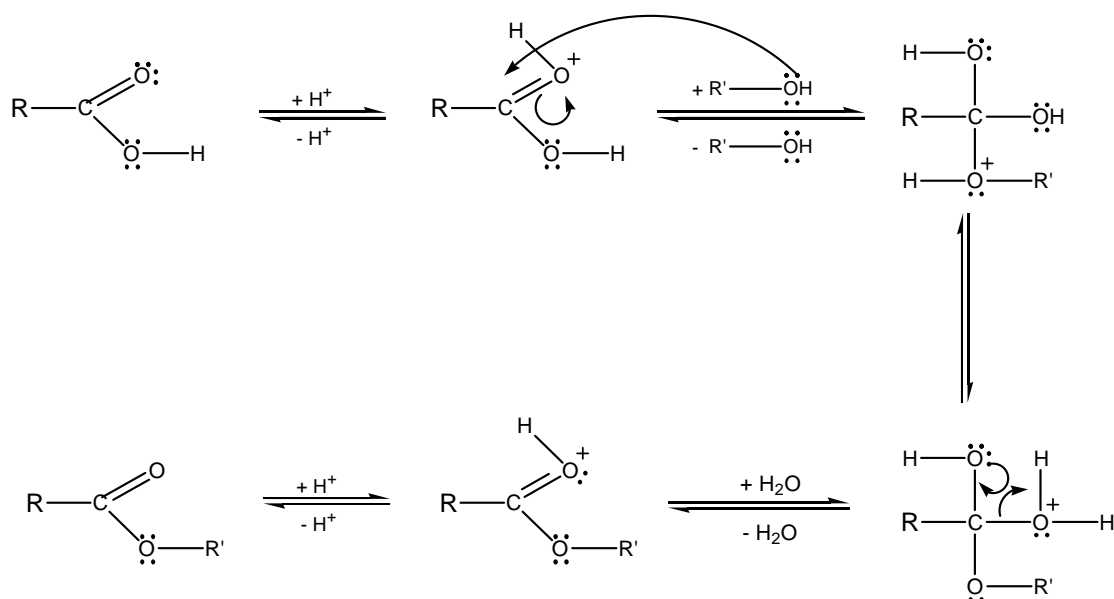
#### 2.3.1.1 Transesterificação

Segundo SOLOMONS (1983), os ácidos carboxílicos reagem com os álcoois formando ésteres, através de uma reação de condensação conhecida como esterificação (Figura 4). Esta reação é catalisada por ácidos e o equilíbrio é alcançado em poucas horas, quando um álcool e um ácido são aquecidos sob refluxo com uma pequena quantidade de ácido sulfúrico concentrado ou com ácido clorídrico. Uma vez que a constante do equilíbrio controla a quantidade do éster formado, o uso de um excesso, seja do ácido carboxílico ou do álcool, aumenta o rendimento em éster. O componente a ser escolhido para uso em excesso dependerá da sua disponibilidade e do custo. O rendimento de uma reação de esterificação também pode ser aumentado por meio da remoção de um dos produtos da mistura reacional, a água, na medida em que ela é formada (Princípio de Le Châtelier).



**Figura 4: Esquema da reação de esterificação de um ácido carboxílico e um álcool.**

O mecanismo típico de reações de esterificação é o de substituição nucleofílica em carbono acila, conforme ilustrado na Figura 5.



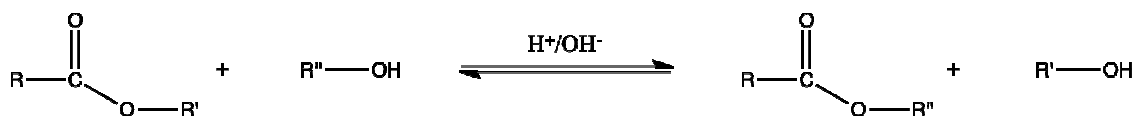
**Figura 5: Mecanismo de uma reação de esterificação.**

Quando se acompanha a reação no sentido horário, tem-se o caminho para a esterificação de um ácido carboxílico, catalisada por ácido. Se, entretanto, focalizam-se as etapas inversas, observa-se o mecanismo da hidrólise de um éster, catalisada por ácido. O resultado obtido depende das condições escolhidas para a reação. Quando se deseja esterificar um ácido, usa-se um excesso do álcool e, se possível, promove-se a remoção da água, na medida em que ela é formada. Se, entretanto, o objetivo é a hidrólise, usa-se um grande excesso de água no meio reacional.

Os fatores estéricos afetam fortemente as velocidades de reação das hidrólises de ésteres catalisadas por ácidos. A presença de grupos volumosos perto do centro de reação (carbono carbonílico), seja no componente alcoólico ou no componente ácido, retarda acentuadamente a reação.

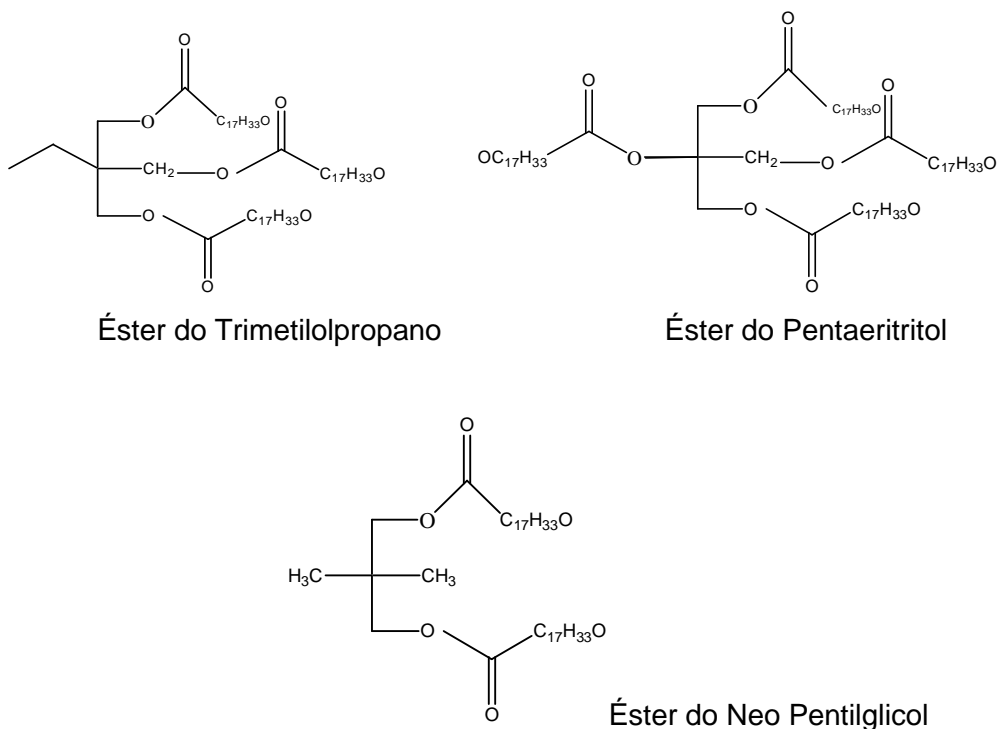
Os óleos vegetais puros apresentam alguns problemas quando submetidos a longos períodos de uso em motores de combustão interna. Estes problemas são atribuídos à alta viscosidade, à baixa volatilidade e ao caráter poliinsaturado destes óleos, e podem ser substancialmente reduzidos pelo processo de transesterificação dos óleos vegetais. Nesta reação, o equilíbrio é deslocado para a direita (sentido dos produtos), permitindo que o álcool, de baixo ponto de ebulição, seja destilado da mistura reagente. O mecanismo da transesterificação é semelhante ao da esterificação catalisada por ácido (ou de uma hidrólise de um éster catalisada por ácido). A transesterificação (Figura 6) é o processo que utiliza um álcool (ex. metanol ou etanol) na presença de um catalisador (ex. hidróxido de sódio ou de potássio) para quebrar quimicamente a molécula do óleo vegetal em seus ésteres metílico ou etílico, com glicerina como subproduto. O óleo vegetal transesterificado é chamado de

biodiesel, devido ao seu uso como combustível diesel. Um grande número de reações de transesterificação tem sido reportado com alcoóis como metanol, etanol e isopropanol, para a obtenção de ésteres de usos comerciais como biodiesel, cosméticos e lubrificantes (ANAND *et al*, 1998).



**Figura 6: Reação de transesterificação de um éster com um álcool.**

As poucas reações de transesterificação reportadas utilizando alcoóis superiores com 8 a 14 carbonos são para a produção de lubrificantes. A glicerina não é desejada na estrutura do triacilglicerol devido à presença do átomo de hidrogênio no carbono localizado na posição  $\beta$  em relação à ligação éster. Isto torna o éster mais susceptível à reação de eliminação, levando à subsequente degradação da molécula. A baixa estabilidade do carbono  $\beta$  do glicerol pode ser eliminada através da transesterificação utilizando alcoóis polihidrícos mais resistentes, com uma estrutura neopentil sem hidrogênio no carbono  $\beta$ , como, por exemplo, isosorbitol ou neopentilpolióis, incluindo pentaeritritol (PE), neopentilglicol (NPG) ou trimetilopropano (TMP) (Figura 7), conforme já relatado. Alcóxidos de sódio do álcool correspondente atuam como os melhores catalisadores para transesterificação, com rendimentos em termos de monoésteres variando de 80 a 90%. Outros catalisadores que também podem ser utilizados são óxido de cálcio e óxido de chumbo. O óxido de chumbo atua como catalisador na transesterificação de óleos vegetais tais como linhaça, oliva, côco e mamona com o PE. Acetato de manganês catalisa a formação de ésteres de alcoóis superiores a partir de óleos vegetais a 220°C (ZIMMERMANN e SCHAAF, 1970).



**Figura 7: Estruturas Moleculares de Ésteres de Poliál derivadas do Ácido Ricinoléico.**

A maior parte dos ésteres de alcoóis superiores é obtida por um processo em duas etapas. Na primeira etapa, o óleo vegetal é hidrolisado ao seu ácido graxo correspondente por uma variedade de métodos. Os ácidos graxos são, então, esterificados, em uma segunda etapa, com o álcool correspondente, utilizando alcóxido de sódio formado *in-situ* e ácido p-toluenosulfônico e resinas trocadoras de cátions como catalisadores (DWIVEDI *et al*, 2002).

### 2.3.2 Reações envolvendo a cadeia de hidrocarboneto nos óleos vegetais

Através deste tipo de reação, as duplas ligações, muito reativas, podem ser eliminadas, levando a produtos com melhores estabilidades à oxidação.

#### 2.3.2.1 Hidrogenação

Alguns óleos vegetais como os óleos de soja, de linhaça e de canola apresentam um alto grau de insaturação, dependendo da quantidade de derivados de ácidos linoléico e linolênico. Como resultado, a estabilidade termo-oxidativa destes óleos é pobre e conduz à polimerização, resultando em produtos mais viscosos e resinosos em temperaturas elevadas. O seu uso como lubrificante, sem redução da

insaturação, pode causar a formação de depósitos, ação corrosiva e danos aos equipamentos, em um intervalo de tempo bastante curto. Uma das várias formas de reduzir a insaturação é parcialmente hidrogenar e ciclizar estes óleos vegetais para melhorar suas vidas úteis sem afetar as suas propriedades em baixas temperaturas. A completa hidrogenação, realizada industrialmente com catalisador de níquel, não é desejada, pois afeta de sobremaneira as propriedades em baixas temperaturas. No entanto, a hidrogenação parcial consiste em um problema parcialmente resolvido. Alguns catalisadores como níquel cromo-modificado têm sido utilizados para este fim, com resultados bastante promissores. Catalisadores homogêneos baseados em complexos de metais preciosos poderiam oferecer uma solução para este problema, desde que um método para recuperação e reciclagem destes catalisadores de elevado custo pudesse ser encontrado. Algumas possibilidades têm sido investigadas, como imobilização dos catalisadores homogêneos em um suporte ou o uso de sistemas de catalisadores microdispersados como colóides, “clusters” e quelatos poliméricos solúveis (BAYER *et al*, 1986).

#### **2.3.2.2 Epoxidação**

A epoxidação é um dos métodos mais convenientes para melhorar a pobre estabilidade termo-oxidativa dos óleos vegetais, causadas pelas duplas ligações. Consiste em uma reação de adição à dupla ligação presente nos ésteres lubrificantes, produzindo em seu lugar um anel epóxido. Os reagentes mais utilizados neste processo são os ácidos perfórmico e peracético.

Outras reações químicas com o objetivo de melhorar as propriedades dos óleos vegetais, as quais atuam nas duplas ligações, são: cisão oxidativa, carboxilação, ciclização, alquiarilação, acetilação, quebra catalítica, polimerização, entre outras (RUDNICK, 2006).

### **2.4 Propriedades Físico-Químicas e de Desempenho de Óleos Lubrificantes**

A principal função dos lubrificantes é minimizar fricção, desgaste, corrosão e formação de depósitos em vários sistemas mecânicos durante a sua operação. Desta forma, a qualidade do lubrificante depende de várias propriedades físico-químicas, tais como viscosidade, fluidez, lubricidade, estabilidade termo-oxidativa, estabilidade hidrolítica e solvência para aditivos. Os óleos básicos correspondem em média a mais de 80% da composição do lubrificante acabado, controlando assim as propriedades físicas do óleo. Os óleos vegetais excedem os óleos minerais em propriedades como lubricidade, volatilidade, índice de viscosidade, etc. Por outro lado, parâmetros como



proteção antidesgaste, capacidade de carga, prevenção à corrosão, espuma e demulsificação são similares aos óleos minerais, podendo ser melhoradas com o uso de aditivos. Outras características também podem ser consideradas críticas, como detergência, compatibilidade com outros óleos básicos, homogeneidade durante longo período de estocagem, estabilidade hidrolítica, acidez, volatilidade e compatibilidade com elastômeros. Sabe-se que a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais depende dos ácidos graxos que o compõem. Quanto maior a insaturação na cadeia, menor será a estabilidade. O comprimento da cadeia linear, a presença de ramificações na mesma e a presença de insaturações também afetam diferentes propriedades.

Esta relação propriedade-estrutura pode ser explicada da seguinte forma. Os óleos vegetais e os aditivos têm estruturas similares. Ambos podem ser representados por uma estrutura química básica comum "R-P", onde R representa um grupo orgânico não-polar, geralmente linear, e P representa um grupo pequeno e relativamente polar. O grupo orgânico R determina o tamanho e a forma da molécula, além de propriedades físicas, tais como viscosidade, densidade, índice de viscosidade (IV), volatilidade e ponto de congelamento. Este grupamento também determina a miscibilidade da molécula em vários líquidos, particularmente naqueles com tamanho molecular e estrutura química similares. Qualquer modificação no grupo R afetará as propriedades acima mencionadas. O grupo P induz polarização na molécula e determina a interação da mesma com outras moléculas, tais como superfícies metálicas eletropositivas, e a interação entre moléculas similares adsorvidas em partículas coloidais, ou cristais de parafina relativamente não polares. Na estrutura "R-P", se o grupo P é levemente polar como amina, amida, sulfonato, etc., o mesmo pode agir como um aditivo detergente-dispersante. Se P é fortemente polar na estrutura "R-P" e forma uma forte ligação com uma superfície metálica eletropositiva, então o mesmo age como um típico aditivo EP (extrema pressão). Uma modificação química no grupo P para um grupo menos polar (ex. éster de cadeia longa ou álcool ramificado) fará com que a estrutura "R-P" funcione como um lubrificante, enquanto que para um grupo mais polar (ex. amina, amida, sulfonato) ajudará a estrutura "R-P" a funcionar como um aditivo (PATIL *et al*, 1998).

Quanto maior o grau de ramificação da molécula de um biolubrificante, melhor a fluidez à baixa temperatura, maior a estabilidade hidrolítica e menor o IV. O oposto se verifica em relação à linearidade. No caso de duplas ligações, quanto maior a saturação, melhor a estabilidade oxidativa e pior a fluidez (WAGNER *et al*, 2001). Básicos sintéticos obtidos a partir de álcoois superiores (trimetilolpropano, pentaeritritol e neo-pentilglicol) com outros óleos vegetais, que não o óleo de mamona, podem ser

facilmente encontrados no mercado, com excelente desempenho, como, por exemplo, o produto da empresa norte americana Hatco denominado Hatcol 2938.

## **2.4.1 Propriedades físicas**

### **2.4.1.1 Viscosidade e IV**

O comportamento viscométrico dos fluidos é caracterizado por viscosidade, índice de viscosidade (IV), fluidez em baixas temperaturas e compressibilidade. A viscosidade dos óleos lubrificantes é a propriedade mais importante desses fluidos, pois está relacionada diretamente à formação da película que irá proteger as superfícies metálicas dos diversos ataques. Em essência, a viscosidade de um fluido é a sua resistência ao escoamento, a qual é função da força necessária para haver deslizamento entre suas camadas internas de moléculas. Para os biolubrificantes não há um valor pré-definido, entretanto, por razões de mercado, a faixa de 8 a 15 cSt a 100°C é a que encontra um maior número de aplicações. A dependência da viscosidade com a temperatura de CMVO's (óleos vegetais quimicamente modificados) é mais favorável quando o IV se aproxima de 200. CMVO's são superiores aos óleos minerais no tocante ao IV. Outras reações como oxidação, polimerização ou oligomerização, favorecem a produção de lubrificantes com um amplo limite de viscosidades (10 a 10000 cSt a 40°C). Além da oxidação e da oligomerização, pode ser obtido um aumento de viscosidade modificando-se o comprimento da cadeia dos grupos acila ou através de ramificações. A viscosidade aumenta com o aumento do comprimento da cadeia do grupo acila. Em grupos acila isolados, ramificações resultam em uma diminuição da viscosidade. No entanto, a viscosidade aumenta se ocorrem "cross-linking" em grupos acil ramificados. "Cross-linking" podem ocorrer via ligações carbono, éter ou sulfeto. A viscosidade também aumenta com o aumento da massa molar e do tamanho da cadeia do álcool. O índice de viscosidade aumenta com o aumento do comprimento da cadeia do ácido graxo ou do álcool utilizado na transesterificação do óleo vegetal. O mesmo diminui com a introdução de ramificações e grupos cíclicos em CMVO's (HWANG *et al*, 2003; ERHAN *et al*, 2002).

O índice de viscosidade é um número adimensional arbitrário utilizado para caracterizar a variação da viscosidade cinemática de um produto derivado do petróleo com a temperatura. Um elevado índice de viscosidade significa uma pequena diminuição da viscosidade de um produto com o aumento da temperatura. Normalmente, o valor do índice de viscosidade é determinado através de cálculos (descritos no método ASTM D2270) que levam em consideração as viscosidades do

produto a 40°C e a 100°C. As duplas ligações e a alta linearidade permitem aos triglicerídeos manter fortes interações intermoleculares com o aumento da temperatura, quando comparados a hidrocarbonetos ou ésteres mais ramificados. Isto confere um maior IV aos óleos vegetais do que os óleos de base mineral (ASADAUSKAS *et al*, 1997)

#### **2.4.1.2 Fluidez em baixas temperaturas**

Este ensaio foi por muito tempo o único utilizado para avaliar o comportamento dos óleos lubrificantes quando submetidos a baixas temperaturas. Após aquecimento preliminar, a amostra é resfriada a uma velocidade especificada e observada em intervalos de 3°C para avaliar as características do escoamento. A menor temperatura na qual se observa movimento no óleo é reportada como o ponto de fluidez. Quanto mais baixo, melhor o óleo básico, sendo valores inferiores a -36°C de grande utilidade. Uma diferença significativa entre óleos minerais e óleos vegetais é o seu ponto de fluidez (-20°C versus -10°C, respectivamente) (ANAND *et al*, 1998), sendo resultado dos grupos acila não ramificados presentes nos óleos vegetais. Mesmo com o uso de agentes abaixadores do ponto de fluidez (PPD) adequados, a temperatura mais baixa para óleos vegetais é de aproximadamente -30°C. A maior parte dos óleos vegetais, tipicamente, solidifica a -15°C quando submetidos a longos períodos de exposição a baixas temperaturas. Assim, são necessárias modificações químicas para suprimir ou eliminar a solidificação dos triacilgliceróis. Transesterificação com alcoóis menores melhora um pouco o ponto de fluidez dos óleos vegetais. Já com alcoóis ramificados, esta redução é bem mais acentuada. A posição da ramificação também é crítica, com ramificações no centro diminuindo mais o ponto de fluidez do que ramificações nas extremidades da cadeia. As ramificações diminuem a simetria interna da molécula, resultando em um decréscimo do ponto de fluidez. O ponto de fluidez também diminui com o aumento da quantidade de duplas ligações na molécula. Apenas a modificação química dos óleos vegetais não é suficiente para atender os critérios de baixa temperatura para uso como óleos de motores automotivos. Assim, eles são misturados com fluidos sintéticos, tais como adipatos e oleatos, PAO's ou óleos minerais para atingir tais critérios. PPD's podem ser usados, mas estes são menos efetivos em fluidos com base em óleos vegetais do que em óleos minerais. Estes aditivos têm um efeito muito pequeno na temperatura de cristalização, entretanto eles restringem o processo de crescimento do cristal para baixar o ponto de fluidez de 10 a 20°C. Estes atuam ajudando no rompimento do mecanismo de "empilhamento" dos óleos vegetais (RUDNICK, 2006).

## **2.4.2 Propriedades de desempenho**

### **2.4.2.1 Lubricidade, EP (extrema pressão) e comportamento antidesgaste**

Estas propriedades são caracterizadas por proteção a desgaste e comportamento de fricção e influenciam na vida útil do equipamento. Em geral, os óleos vegetais apresentam melhor lubricidade do que os óleos minerais. A ligação éster confere uma lubricidade inerente e auxilia na adesão à superfície metálica. Em lubrificação hidrodinâmica, a viscosidade, a qual está relacionada à espessura do filme, apresenta um efeito notável na fricção e no desgaste. A viscosidade do lubrificante depende da viscosidade do óleo básico a 40°C, da temperatura (IV), da pressão (coeficiente pressão viscosidade) e do efeito da taxa de cisalhamento. O coeficiente pressão viscosidade (PVC) pode ser aumentado por meio do aumento do comprimento das cadeias ramificadas, com um maior grau de ramificação e mais aromaticidade. À medida que a distância entre as superfícies de contato diminui (no sentido da lubrificação hidrodinâmica em direção à elastohidrodinâmica), o material de construção, o PVC (devido do aumento de pressão entre as superfícies de contato) e a polaridade dos CMVO's se tornam muito importantes. O CMVO polar adere à superfície e permanece na área de contato, enquanto o material não polar é expulso. Na lubrificação limítrofe, as propriedades físicas dos lubrificantes desempenham um papel minoritário. Fenômenos de superfície, tais como filmes formados por reações triboquímicas e camadas de lubrificantes adsorvidas química e fisicamente comandam a lubrificação limítrofe. Os CMVO's possuem um alto grau de polaridade devido às ligações éster nas moléculas, ajudando-as a formar ligações físicas com as superfícies metálicas utilizando o par de elétrons livres do átomo de oxigênio da ligação éster, sendo, portanto, lubrificantes mais eficientes do que óleos minerais não polares (FOX e STACHOWIAK, 2003).

### **2.4.2.2 Eficiência energética**

Entende-se por eficiência energética a utilização racional de energia, ou seja, o uso de uma quantidade menor da mesma para fornecer a mesma quantidade de valor energético. A eficiência energética de um sistema pode ser aumentada pela diminuição da viscosidade, do coeficiente de fricção e do PVC. Uma baixa viscosidade é desejável para se reduzir a perda energética devido à resistência imposta pela viscosidade. Os CMVO's têm baixos coeficiente de fricção e PVC, comparados a óleos minerais de mesma viscosidade. PVC's e coeficientes de fricção de cadeias de ácidos graxos lineares e polares são menores do que de cadeias ramificadas e mistas (MERCHANT, 1946). Alguns aditivos antidesgaste, tais como compostos de

molibdênio, os quais têm grande efeito na redução de coeficiente de fricção, podem ser adicionados às formulações.

### **2.4.2.3 Poder de solvência e compatibilidade**

Os óleos vegetais têm um poder superior de solubilização de moléculas de contaminantes e aditivos quando comparados aos óleos minerais. A maior parte dos CMVO's é totalmente compatível com óleos minerais e outros fluidos funcionais. Desta maneira, muitos aditivos desenvolvidos para óleos minerais também podem ser utilizados com CMVO's. A mistura de CMVO's com fluidos funcionais como PAO's, ésteres de TMP e outros, melhora o seu desempenho em baixas temperaturas, além de poder superar o problema de solubilidade de aditivos em PAO's.

Quando o lubrificante entra em contato com selos elastoméricos, podem ocorrer dois processos: inchamento e encolhimento. O inchamento é causado pela absorção do lubrificante pelo selo, enquanto o encolhimento ocorre devido à extração de componentes solúveis do selo. O grau de inchamento diminui com o aumento da massa molar do lubrificante, com o aumento da diferença de parâmetros de solubilidade entre lubrificante e selo, com o maior número de estruturas cíclicas e ramificadas e com a diminuição da polaridade (PATIN e JAMES, 2002).

### **2.4.3 Propriedades químicas**

#### **2.4.3.1 Estabilidade térmica e oxidativa**

Os biolubrificantes apresentam uma tendência a sofrer uma rápida oxidação em temperaturas elevadas, aumentando a preocupação com seu desempenho. Em função da necessidade de pouca quantidade de amostra, "Pressurized differential scanning calorimetry" (PDSC) é um dos métodos de escolha para a medição da estabilidade oxidativa dos lubrificantes, entre vários outros métodos disponíveis (bomba rotatória, teste de oxidação turbine oil, estimacão de peróxidos, método do oxigênio ativo e método Rancimat). A temperatura inicial (OT) é definida como a temperatura na qual um rápido aumento na taxa de oxidação do sistema é observado. Através de modificações químicas adequadas nos pontos de insaturação dos óleos vegetais e do uso de pacotes de aditivos (formulações prontas), estas deficiências podem ser superadas. Maior número de duplas ligações torna o material mais susceptível à rápida oxidação que conduz a um aumento em viscosidade, IAT (índice de acidez total) e corrosão. Entretanto, estas duplas ligações são necessárias para manter a fluidez em baixas temperaturas.

A transesterificação melhora a estabilidade oxidativa dos óleos vegetais. Cálculos de energia de ligação predizem que a ligação éster é termicamente mais estável do que a ligação C-C. Uma baixa estabilidade termo-oxidativa de certos CMVO's é atribuída ao hidrogênio ligado ao carbono  $\beta$  do glicerol, a qual pode ser melhorada pelo uso de polióis. Cadeias de ácidos graxos lineares são mais estáveis termicamente do que cadeias ramificadas, devido às estabilidades relativas de  $\text{CH}_3 > \text{CH}_2 > \text{CH}$ , onde  $\text{CH}_3$  é o mais estável. Moléculas aromáticas são mais estáveis à degradação por oxidação (ADHVARYU *et al*, 2002; HONARY, 1996).

A tendência à formação de depósitos depende da estabilidade do lubrificante, dos aditivos e da polaridade da molécula, afetando a detergência e a dispersância (HONARY, 1996).

De acordo com HONARY e RICHTER, 2011, a estabilidade oxidativa se refere à habilidade do óleo em manter suas propriedades, principalmente a viscosidade, quando exposto a condições operacionais específicas. Como óleos vegetais são o principal ingrediente da indústria alimentícia, a maior parte dos métodos de determinação da estabilidade oxidativa foram criados por esta indústria e, por associação, pela indústria química. Os métodos para estabilidade oxidativa utilizados pela indústria de lubrificantes são baseados em óleos derivados do petróleo (óleos minerais) e, em geral, não são freqüentemente adequados aos óleos vegetais. Pesquisadores que trabalham com biolubrificantes preferem utilizar padrões criados pela "American Oil Chemists' Society" (AOCS), além de versões modificadas de padrões criados pela "American Society for Testing and Materials" (ASTM). Dois métodos da AOCS foram utilizados neste estudo (OSI e índice de peróxido), os quais serão descritos no capítulo 5 (Metodologia).

Para lubrificantes de base vegetal, é mais apropriado o uso de testes de estabilidade oxidativa desenvolvidos para óleos vegetais. O conceito errado (muito comum) de que óleos vegetais devam apresentar um desempenho igual aos óleos minerais, em testes desenvolvidos para estes últimos, pode resultar na eliminação de alguns óleos de base vegetal de elevado desempenho. Por exemplo, o ensaio "Thin Film Oxygen Uptake" (TFOUT) é comumente utilizado para avaliação de óleos básicos de base mineral para formulação de lubrificantes para motores automotivos. Este ensaio não consegue diferenciar óleos vegetais com diferentes estabilidades oxidativas. Da mesma forma, óleos de base mineral não apresentam o mesmo desempenho dos de base vegetal no ensaio OSI. Desta forma, o ensaio OSI não é útil para a avaliação de lubrificantes de base mineral (HONARY e RICHTER, 2011). O ensaio mais comumente empregado para a determinação da estabilidade oxidativa de óleos de base mineral é a bomba rotatória (RPVOT), o qual também vem ganhando

popularidade na avaliação de óleos de base vegetal. No entanto, as modificações nos lubrificantes resultantes deste método nem sempre são associadas à oxidação do lubrificante. Algumas modificações ocorrem devido à degradação térmica ou à hidrólise do lubrificante.

O processo de auto-oxidação envolve radicais livres. Desta forma, os estudos realizados com o objetivo de retardar o processo de oxidação utilizam antioxidantes de quebra de cadeia isentos de radicais livres (antioxidantes primários) e decompositores de hidroperóxidos (antioxidantes secundários), ou ainda combinações de ambos (RUDNICK, 2003).

Os óleos minerais sofrem oxidação quando expostos ao ar e ao calor. Como uma regra geral, a taxa de reação com o oxigênio dobra a cada aumento de 10°C de temperatura. A oxidação de óleos vegetais ocorre em dois estágios, primário e secundário. O primeiro estágio envolve a formação de radicais livres de hidroperóxidos nas porções de ácido graxo das moléculas, enquanto no segundo estágio, após crescimento suficiente da concentração de hidroperóxido, há a decomposição para formar alcoóis, aldeídos e cetonas, juntamente com produtos voláteis de decomposição (FOX e STACHOWIAK, 2003).

Usando-se um esquema básico das reações de auto-oxidação, as seguintes etapas podem ser consideradas para análise do mecanismo de oxidação:

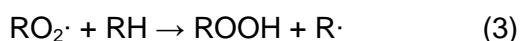
- Sob condições de alta temperatura, formam-se radicais livres.



- Em seguida, sob atmosfera de oxigênio, a oxidação tem início, gerando prontamente radicais peróxido.



- Esta reação pode ser seguida pela formação de hidroperóxidos e de novos radicais livres.



- A reação em cadeia pode ser terminada por recombinações de dois radicais alquila ou radical alquila – radical peróxido.





Entretanto, a reação com maior tendência de ocorrer é a recombinação/desproporcionação de radicais peróxido.



Como visto, a formação dos hidroperóxidos ocorre por meio de uma reação autocatalítica entre oxigênio e óleos insaturados, envolvendo radicais livres. A reação se inicia com a formação dos radicais livres (iniciação). Cada radical livre pode se combinar com oxigênio e um grupo insaturado para produzir um hidroperóxido e outro radical livre, iniciando uma reação em cadeia (propagação). Este processo continua até os radicais livres serem destruídos, usualmente pela combinação para formação de moléculas não reativas (terminação). Na prática, isto resulta em uma lenta taxa inicial de reação durante o período denominado período de indução, seguida de uma súbita e muito mais rápida taxa de formação de hidroperóxidos. A extensão do período de indução é utilizada freqüentemente como uma medição da estabilidade oxidativa do óleo (GUNSTONE e PADLEY, 1997).

O tipo do óleo, em particular o grau de insaturação, apresenta um efeito importante no período de indução e na taxa de reação. Duplas ligações conjugadas são particularmente susceptíveis à oxidação, e também tendem a ser formadas como um resultado da oxidação. A temperatura tem um efeito até mais importante do que o tipo de óleo, pois a mesma tem um efeito muito forte na taxa de oxidação. A concentração de oxigênio também tem um efeito direto na taxa de formação de hidroperóxidos.

Outro fator que acelera a oxidação é a radiação, incluindo a luz solar e a artificial. A luz promove a formação de radicais livres, influenciando a iniciação da auto-oxidação. A foto-oxidação ocorre por um mecanismo diferente envolvendo oxigênio singleto em taxas 1000 ou mais vezes mais rápidas do que a auto-oxidação. Ela é promovida por sensibilizadores como a clorofila e é inibida por “quenchers” de oxigênio singleto, como caroteno.

Alguns metais são pró-oxidantes mesmo em níveis muito baixos. Estes metais catalisam a formação de radicais livres, por exemplo, via decomposição de hidroperóxidos (LUNDBERG, 1962). No caso de metais como Cu, Fe e Ni, os valores



recomendados para se evitar o efeito pró-oxidante são 0,01, 0,1 e 0,1 ppm, respectivamente.

Os antioxidantes naturais, tais como tocoferóis, caroteno, lecitina e gossipol, estão presentes naturalmente nos óleos vegetais. Os antioxidantes evitam ou reduzem a formação de radicais livres, promovendo reações de terminação. Muitos antioxidantes naturais também sofrem oxidação. Outro mecanismo de atuação dos antioxidantes é através da formação de uma película sobre a superfície metálica, evitando assim o contato da mesma com o óleo. Muitos antioxidantes sintéticos têm sido desenvolvidos e testados em óleos vegetais (PATTERSON, 1989), como, por exemplo, produtos fenólicos e aminas. O produto mais conhecido, BHT (2,6-di-*tert*-butil-1-4-metilfenol) é efetivo em ésteres e óleos vegetais em baixas temperaturas. Tem a vantagem de estar na categoria 1 de poluição de água e ser aprovado pelo FDA. Outros produtos fenólicos com estas vantagens em temperaturas mais elevadas são conhecidos (FESSENBECKER e KORFF, 1994).

A umidade também exerce influência nas reações de oxidação. Em um nível de atividade de água de  $0,5 \pm 0,2$  (um teor de água de aproximadamente 50% da solubilidade de saturação), a água tende a estabilizar os hidroperóxidos e facilitar as reações de terminação dos radicais livres. Em níveis inferiores, esta “hidroproteção” é negligenciável, conduzindo a altas taxas de oxidação. Já em níveis mais elevados, ocorre o risco de formação de ácidos graxos livres (os quais oxidam mais rápido do que os glicerídeos), rancidez hidrolítica, ataque enzimático e lixiviação de ferro. Qualquer que seja a causa, as taxas de oxidação tendem a serem maiores em teores de umidade próximos ou superiores à saturação.

A decomposição dos hidroperóxidos pode produzir uma variedade de compostos, incluindo aldeídos, cetonas, ésteres, alcoóis, ácidos, hidrocarbonetos e polímeros. A decomposição inicial envolve freqüentemente a fissão na posição hidroperóxido, dando origem a um aldeído de baixo peso molecular (relativamente volátil) e a um resíduo aldeídico de triglicerídeo de alto peso molecular (não volátil).

Pouca atenção tem sido dada à etapa de absorção de oxigênio, a qual é provavelmente a mais importante no processo de oxidação. A oxidação só ocorre se houver oxigênio dissolvido no óleo. Se esta absorção é prevenida ou minimizada, a oxidação não ocorre ou é limitada (GUNSTONE e PADLEY, 1997).

O método analítico mais utilizado para determinação do grau de extensão da oxidação de óleos vegetais é o índice de peróxido (IP), o qual será descrito com mais detalhes no capítulo de metodologia. Um baixo valor de IP em uma amostra analisada pode ser o resultado de uma rápida decomposição dos hidroperóxidos, ao invés de uma lenta formação dos mesmos.

Com já citado, a oxidação ocorre apenas com oxigênio dissolvido ou absorvido. A solubilidade e a taxa de difusão do oxigênio no óleo são, deste modo, relevantes para o entendimento da taxa e da extensão da oxidação. A solubilidade do nitrogênio também é importante, pois o mesmo é freqüentemente utilizado para proteger os óleos da oxidação. A resistência à difusão específica [= 1/(difusividade x solubilidade)] do óleo de oliva e da trioleína é aproximadamente a mesma, enquanto a do tributirin é aproximadamente 50% menor, sugerindo que a solubilidade e/ou difusividade do oxigênio em óleos é dependente do comprimento da cadeia do triglicerídeo (GUNSTONE e PADLEY, 1997). A difusividade do oxigênio no óleo também depende da temperatura. Com base em medidas das freqüências de colisões bimoleculares do oxigênio em óleo de oliva nas temperaturas 5-60°C, SUBCZYNSKI e HYDE, 1984, concluíram que a difusividade depende aproximadamente da raiz quadrada do valor da temperatura absoluta dividido pela viscosidade.

A taxa de absorção de oxigênio é dada pela equação:

$$Q_{O_2} = V \frac{dC}{dt} = KA(C_0 - C) \quad (7)$$

onde:  $Q_{O_2}$  = taxa de absorção de oxigênio (mol/s);

$C$  = concentração de oxigênio (mol/cm<sup>3</sup>);

$C_0$  = solubilidade equivalente em óleo (mol/cm<sup>3</sup>);

$V$  = volume do sistema (cm<sup>3</sup>);

$K$  = coeficiente de absorção ou de transferência de massa (cm/s);

$A$  = área de contato entre gás e óleo (cm<sup>2</sup>).

Os fatores que afetam a taxa de absorção são, portanto, a razão área superficial/volume do óleo, a concentração de oxigênio no espaço acima do óleo, e o efeito da agitação (natural ou mecânica), especialmente próximo à superfície do óleo, no coeficiente de absorção.

A estabilidade oxidativa depende da natureza dos ácidos graxos predominantes no óleo vegetal. Óleos contendo predominantemente ácidos graxos saturados apresentam boa estabilidade oxidativa, comparado a óleos contendo ácido oléico ou outros ácidos graxos monoinsaturados. Os óleos vegetais compostos em sua maioria por ácidos graxos poliinsaturados exibem uma pobre estabilidade oxidativa.

Os óleos vegetais são, em geral, menos voláteis do que óleos minerais e sintéticos de mesma viscosidade. A oxidação não afeta a volatilidade destes óleos.

Em geral, as taxas de oxidação dos hidrocarbonetos são dependentes da temperatura, da superfície de contato com metais e de fontes de irradiação, tais como a luz do sol ou a luz ultravioleta (RASBERGER, 1997; CHASAN, 1990).

O consenso geral em termos da estabilidade oxidativa de óleos vegetais é o de que os mesmos degradam mais rapidamente do que os óleos minerais, e em geral, a estabilidade é inversamente proporcional ao grau de insaturação. Isto ocorre devido à facilidade de reação dos hidrogênios alílicos adjacentes a múltiplas duplas ligações carbono-carbono nestas estruturas. Devido à necessária insaturação nos óleos vegetais requerida pelas propriedades a baixas temperaturas, a sua estabilidade oxidativa será, geralmente, menor do que o de fluidos sintéticos totalmente saturados, como PAO, PIO, éster sintético, etc. Isto significa que para atingir desempenho comparável com estes produtos, as formulações com óleos vegetais requerem grandes quantidades de antioxidantes (ERHAN e PEREZ, 2002).

Ésteres de ácidos graxos com grupamentos no carbono 12, como, por exemplo, o éster 12-acetilricinoleato de metila (derivado do óleo de mamona), apresentam melhores estabilidades oxidativas (YAO *et al*, 2010). Isto ocorre em função do impedimento estérico imposto pelo grupamento, o qual está situado no carbono adjacente à dupla ligação. Desta maneira, torna-se mais difícil a eliminação dos hidrogênios alílicos adjacentes a esta dupla ligação. O estudo experimental desta estabilidade é um dos objetivos deste trabalho e será discutido em detalhes mais adiante.

#### **2.4.3.2 Estabilidade hidrolítica**

A estabilidade hidrolítica pode ser medida através do IAT. O IAT baixo dos CMVO's contribui para sua boa estabilidade química e térmica. Em termos de estabilidade hidrolítica, os óleos minerais são superiores aos óleos vegetais e seus derivados. A presença da ligação éster torna os CMVO's mais susceptíveis à hidrólise quando expostos a atmosferas úmidas, ou quando em contato com água. A resistência à hidrólise depende do tipo de álcool no éster (se o produto é transesterificado), do tamanho das ramificações acila nas cadeias de ácidos graxos, da geometria molecular, dos aditivos empregados e das condições de operação. Grupos acila lineares são mais susceptíveis à hidrólise do que grupos acila ramificados. Os parâmetros de processo (acidez, grau de esterificação, remoção de resíduos de catalisador e agente neutralizante) dos CMVO's também apresentam um importante impacto em sua estabilidade hidrolítica. Uma baixa acidez, um alto grau de esterificação e um baixo nível de resíduos de processo aumentam a estabilidade hidrolítica dos CMVO's (RUDNICK, 2006).

### 2.4.3.3 Biodegradabilidade

Os produtos baseados em óleos vegetais são os que melhor atendem os requisitos de lubrificantes ambientalmente compatíveis. A sua biodegradabilidade resulta da decomposição por micro-organismos em produtos não tóxicos (CO<sub>2</sub> e água). A forma como os micro-organismos executam esta tarefa depende da estrutura, particularmente da extensão da cadeia ramificada. A extensão da biodegradabilidade é afetada pelos seguintes aspectos (KITAMURA, 1993):

- Composição química: aminoácidos, ácidos graxos, etc., que, em geral, são prontamente biodegradáveis, e hidrocarbonetos;
- Compostos aromáticos são geralmente resistentes à biodegradação. Um benzeno possuindo -OH, -COOH, -NH<sub>2</sub>, -CH, -CH<sub>3</sub> ou -OCH<sub>3</sub> é mais biodegradável, porém estruturas contendo halogênios, -NO<sub>2</sub> e -SO<sub>3</sub>H são mais resistentes;
- A biodegradação de hidrocarbonetos lineares ocorre mais rapidamente do que de ramificados (ERHAN e KLEIMAN, 1997);
- Ligações éster em CMVO's protegidas por impedimentos estéricos diminuem a biodegradabilidade;
- A biodegradabilidade de produtos derivados de transesterificação de óleos vegetais diminui com o comprimento das cadeias acílicas e do álcool.

Três tipos de métodos estão disponíveis de acordo com a biodegradabilidade do material (susceptibilidade a ataque microbiano aeróbico ou anaeróbico), sendo os mesmos classificados como biodegradabilidade relativa (primária), inerente ou pronta. Prontamente biodegradável é definido como uma degradação de 80% que ocorre em água salgada em 21 dias. A maior parte dos biolubrificantes hidráulicos é prontamente biodegradável. Inerentemente biodegradáveis são tipicamente lubrificantes grau alimentício e óleos minerais brancos. Estes produtos levam mais tempo do que óleos vegetais para degradar no meio ambiente e são tóxicos após longos períodos. A biodegradabilidade relativa de um lubrificante é medida, tipicamente, pelo método CEC-L-33-A-94. A biodegradabilidade de óleos vegetais é aproximadamente 99% e usualmente cai para 90 a 98% com a aditivização. Já a biodegradabilidade dos óleos minerais é de apenas 20% (BIROVÁ *et al*, 2002; MAKKONEN, 1994).

## 2.5 Oxidação de Superfície

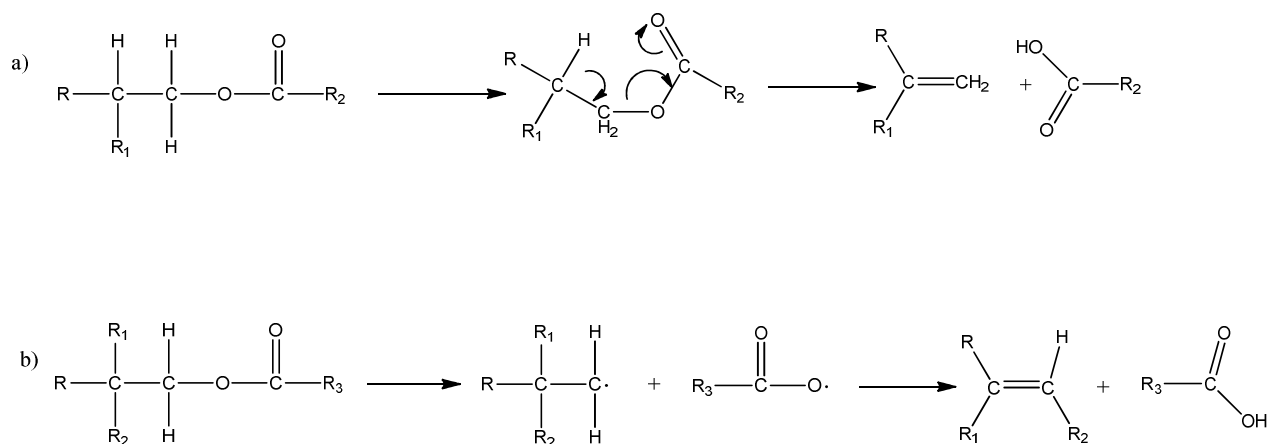
A oxidação de lipídeos à temperatura ambiente no seio do estado líquido é muito lenta, especialmente na presença de antioxidantes, para ser considerada um processo comercial para a obtenção de produtos oxigenados. Em temperaturas elevadas, a oxidação ocorre acompanhada por uma rápida decomposição dos peróxidos em uma série de produtos. Segundo alguns estudos (TEKIN e HAMMOND, 2004), a taxa de oxidação é fortemente acelerada quando moléculas de ácidos graxos são adsorvidas na sílica gel em uma concentração de monocamada, a qual para a sílica gel consiste em aproximadamente 20% da sua massa representada pela massa do óleo. A taxa de oxidação por monocamada é 8 a 10 vezes maior do que no seio, sendo esta taxa acelerada atribuída ao alinhamento favorável da cadeia do ácido graxo e ao acesso imediato ao oxigênio. Tem sido reportado que monocamadas de ácido linoléico oxidam sem a observação de um período de indução, mas com a adição de antioxidantes o mesmo surge, com a taxa de oxidação sendo reduzida (PORTER *et al*, 1972). A cinética de oxidação em monocamadas de ácidos graxos poliinsaturados segue uma cinética de primeira ordem, mas a adição de quantidades substanciais de ácidos graxos saturados, especialmente láurico, mirístico e palmítico, diminuiu a taxa de desaparecimento do ácido linoléico. Já o ácido oléico dificilmente sofre oxidação nas condições de monocamada.

Os produtos de oxidação do ácido linoléico a 60°C e em monocamada são bastante diferentes daqueles obtidos através da oxidação no seio do líquido. No caso da monocamada, os produtos principais são ácidos graxos epoxidizados (TEKIN e HAMMOND, 2004).

A técnica de oxidação de superfície também pode ser utilizada para acompanhamento e medição da estabilidade oxidativa de ésteres, apresentando como vantagens o fato de requerer mínimas quantidades de amostras, ser um método relativamente rápido e seguir uma cinética de primeira ordem. Entretanto, um grande número de tentativas de se estudar a oxidação do oleato de metila em superfície de sílica gel não foram bem sucedidas (TEKIN e HAMMOND, 2004; SLAWSON *et al*, 1973; WU *et al*, 1977). Outros estudos mostraram que o oleato de metila se oxida aproximadamente 10 vezes mais lento do que o linoleato de metila, quando ambos são oxidados juntos (WONG e HAMMOND, 1977; FATEMI e HAMMOND, 1980). Ensaio de oxidação de superfície vêm sendo tipicamente conduzidos a 60°C ou menos. (PORTER *et al*, 1972; KOPRUCUOGLU *et al*, 2011) exibiram evidências de que a taxa de oxidação de superfície é controlada por traços de metais presentes na sílica gel.

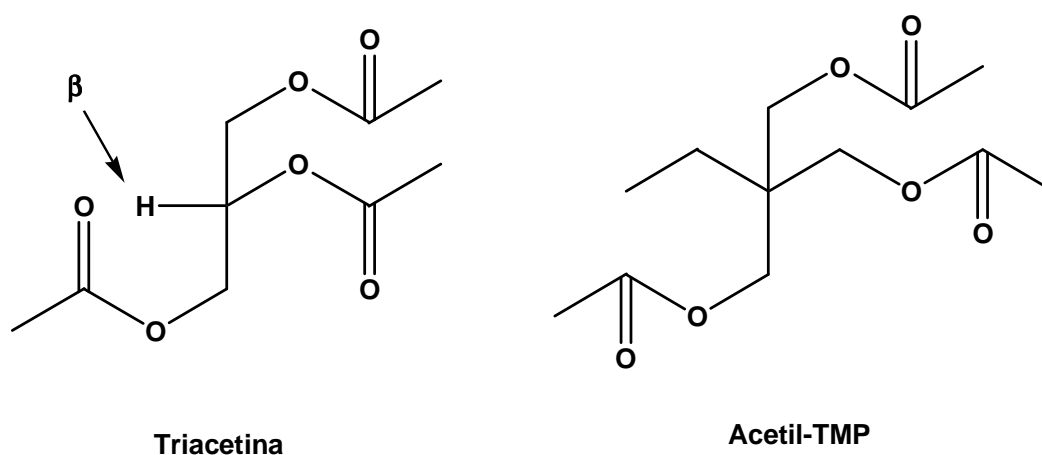
## 2.6 Estabilidade Térmica

A estabilidade térmica de lubrificantes derivados de óleos vegetais é uma questão importante. De acordo com MOULOINGUI e PELET, 2001, uma molécula derivada de um triglicerídeo apresenta boa estabilidade térmica se ocorre a ausência de átomos de hidrogênio no carbono  $\beta$  da parte alcoólica do éster. Quando presente, este tipo de átomo de hidrogênio favorece o risco de decomposição da molécula através de um mecanismo cíclico de energia relativamente baixa levando à formação de um ácido e de um alceno. No caso de ésteres sem um hidrogênio  $\beta$ , ocorre um mecanismo envolvendo apenas radicais livres. Este mecanismo requer mais energia e ocorre apenas em elevadas temperaturas, conforme ilustrado na Figura 8. Desta forma, poliésteres possuem funções éster as quais são protegidas devido ao impedimento estérico do poliálcool. No caso de ésteres do 2-etil-hexanol, aplica-se raciocínio semelhante. O álcool tem uma ramificação etílica na posição  $\beta$  ao grupamento hidroxila, a qual provoca impedimento estérico em torno da ligação éster, conduzindo a uma maior estabilidade térmica e a uma maior resistência à oxidação. Isto é importante na síntese de poliésteres derivados de biodiesel, quando os alcoóis escolhidos são trimetilolpropano (TMP), neopentilglicol e pentaeritritol.



**Figura 8: a) Decomposição térmica de ésteres com um átomo de hidrogênio no carbono beta da parte alcoólica; b) Decomposição via radicais livres de ésteres sem hidrogênio beta.**

Entretanto, evidências experimentais para esta teoria do hidrogênio  $\beta$  são fracas. Para se estudar tal hipótese, foi sintetizado um éster triacetato do trimetilolpropano (Acetil-TMP), sendo a estabilidade do mesmo comparada à de um glicerol triacetato comercial (Triacetina) (Figura 9).



**Figura 9: Moléculas dos compostos Triacetina e Acetil-TMP.**

Nas últimas décadas, as técnicas termoanalíticas adquiriram importância crescente em todas as áreas de conhecimento na química básica e aplicada. Estes métodos são largamente utilizados no controle de qualidade de óleos vegetais, pois fornecem, com rapidez, dados sobre a estabilidade do óleo, perante o seu comportamento térmico. Encontram-se na literatura trabalhos sobre o ponto de fusão, cristalização e a oxidação de óleos e gorduras vegetais comestíveis por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC). Este mesmo estudo foi realizado por Termogravimetria (TG), Termogravimetria Derivada (DTG) e Análise Térmica Diferencial (DTA) (FARIA *et al*, 2002).

A análise térmica possibilita uma ampla faixa de aplicação para medição de propriedades físicas, estudo de reações químicas, avaliação da estabilidade térmica, determinação da composição de materiais e desenvolvimento de metodologia analítica.

Conforme já discutido, a estabilidade térmica pode ser medida através das técnicas Termogravimetria (TG), DSC ou por meio de um aparato (reator de vidro) acoplado a um GC-MS (cromatografia gasosa acoplada a um detector de massa) para analisar os compostos voláteis oriundos da decomposição de amostras.

## 2.7 Aplicações e Usos dos Biolubrificantes

Foi reportado que mais da metade dos lubrificantes comercializados mundialmente polui o meio ambiente devido à lubrificação com perda total (ex. mancais abertos de moendas de cana de açúcar), vazamentos e evaporação (HONARY, 2009).

Os benefícios dos óleos vegetais, por serem biodegradáveis e renováveis, têm propiciado um incentivo na busca por aplicações para os mesmos como lubrificantes para moto-serras, para motores náuticos, fluidos de perfuração e em aplicações com perda parcial, como fluidos hidráulicos e graxas.

A demanda mundial por equipamentos geradores de energia ao ar livre (ex. turbinas eólicas) aumentou para U\$ 14 bilhões em 2002. As vendas mundiais de cortadores de grama a gasolina em 2002 alcançaram 5 milhões de unidades, duas vezes o número de unidades vendidas em 1997. O mesmo ocorreu com moto-serras e ventiladores e compressores a gasolina. Este crescimento na venda de equipamentos também se refletiu em um aumento na demanda de lubrificantes para reposição no sistema “faça você mesmo”. Uma parte significativa disto veio da indústria de motores dois ciclos, onde o usuário mistura lubrificante e combustível para produzir a mistura que queima e move o equipamento. O destino de muitos destes óleos é desconhecido. Se os mesmos são reciclados, então o impacto ambiental pode ser minimizado, entretanto, se os mesmos são descartados no local de uso, ou mesmo em contêineres que se tornarão aterros sanitários, estes fluidos se tornarão poluentes. O uso de fluidos mais ambientalmente compatíveis nestas áreas de aplicação tem o potencial de reduzir significativamente o impacto causado pelo uso destes equipamentos no meio ambiente (GLENN, 2003).

Os óleos vegetais custam aproximadamente duas vezes mais que os óleos minerais, porém são biodegradáveis e renováveis. Além disso, eles podem apresentar características biodegradáveis geralmente apresentadas por ésteres sintéticos, mas com um custo substancialmente inferior. Os óleos vegetais são, em geral, deficientes em relação aos óleos minerais e aos óleos minerais quimicamente modificados (CMMOs) em termos de estabilidade térmica e oxidativa. Há também, em alguns casos, sérias limitações ao uso de óleos vegetais em aplicações que requeiram operação em baixas temperaturas.

A chave para o uso de lubrificantes baseados em óleos vegetais é a de que eles não servem para todas as aplicações. Não há óleo vegetal produzido em quantidade suficiente no mundo anualmente. A produção total de óleo vegetal não é utilizada na produção de lubrificantes. Assim, torna-se útil considerar o uso de óleos vegetais em aplicações lubrificantes onde as propriedades e o desempenho sejam mais bem relacionados. No caso de óleos vegetais, isto ocorre em aplicações onde as máximas temperaturas de operação sejam inferiores a 120°C. Por outro lado, estão as propriedades a baixas temperaturas dos óleos vegetais, em comparação com lubrificantes sintéticos, óleos minerais e CMMO's. Muitos destes lubrificantes têm excelentes propriedades a baixas temperaturas e podem ser utilizados em condições



árticas por extensos períodos de tempo. Já os óleos vegetais devem ser empregados em aplicações onde a temperatura ambiente permaneça acima de  $-40^{\circ}\text{C}$  (RUDNICK, 2006).

Os lubrificantes podem ser classificados em duas categorias principais: automotivos e industriais. Mais de 70% do volume total de lubrificantes é utilizado como óleo de motor automotivo, com o restante servindo às aplicações industriais. As vantagens em termos de propriedades dos CMVO's, como alto IV, baixa perda por evaporação, bom desempenho à baixa temperatura, e liberação de produtos inócuos durante a operação, torna-os forte candidatos ao uso como lubrificantes. Devido ao seu custo elevado, as melhores áreas de aplicação para lubrificantes de base vegetal são aquelas onde as suas vantagens ambientais possam ser exploradas ao máximo (RUDNICK, 2006).

A viscosidade à baixa temperatura é a característica técnica mais importante dos lubrificantes modernos para motores automotivos. A partida a frio resulta em desgaste para o motor, o qual pode ser superado pelo uso de produtos que propiciem uma lubrificação efetiva imediata. Para atender a estas especificações relacionadas à eficiência energética, óleos de baixa viscosidade e baixa perda por evaporação têm sido introduzidos no mercado. Óleos vegetais transesterificados são bons candidatos a serem utilizados como óleo de motor devido a sua superior estabilidade térmica em relação ao óleo vegetal correspondente, baixa viscosidade, baixa formação de depósitos (intervalo de troca maior, sistemas mais limpos) e melhores propriedades em baixas temperaturas. Entretanto, os óleos vegetais apresentam algumas desvantagens para esta aplicação, como: aumento de viscosidade com o uso, pela oxidação, reduzindo os intervalos de troca; incompatibilidade com óleos minerais, devendo se purgar o motor antes da troca; e limitações em baixas temperaturas para algumas formulações. Os fabricantes de motores não estão inclinados a aceitar um óleo de motor com um curto intervalo de troca. Entretanto, os motores atuais são projetados para o uso de óleos de base mineral. As suas bombas e passagens são dimensionadas para óleos que se tornem mais espessos. A sua capacidade de óleo é calculada para um peso mínimo de forma a economizar combustível, e não em função de se ter um atrito mínimo (RUDNICK, 2006).

Um bom fluido hidráulico tem as seguintes características: poder de transmissão com um mínimo de perdas, lubrificação de superfícies deslizantes e proteção contra corrosão. A tendência ao uso de biolubrificantes nesta área é crescente devido a sua biodegradabilidade, reciclabilidade, resistência ao fogo, estabilidade térmica, bom desempenho em termos de desgaste e desempenho em altas e baixas temperaturas. Os óleos vegetais apresentam muitas das propriedades

necessárias a fluidos hidráulicos, exceto o seu pobre desempenho em baixas temperaturas e baixas estabilidades à oxidação e hidrolítica, os quais podem ser superados por meio de modificações químicas adequadas (BARTZ, 2000).

Um estudo extensivo sobre a utilidade de fluidos hidráulicos com base em óleo de canola consistiu em testes de longo prazo, utilizando 37 máquinas agrícolas, as quais utilizavam um fluido hidráulico formulado com base neste óleo (REMMELE e WIDEMANN, 1999). Várias máquinas foram monitoradas. Os fluidos foram avaliados por meio de sua viscosidade cinemática e de seu número de neutralização (IAT). Os resultados mostraram que os fluidos hidráulicos baseados em óleo de canola foram adequados para o uso em tais máquinas. Além disso, a baixa ecotoxicidade e a alta biodegradabilidade também foram observadas neste estudo.

Uma quantidade significativa de calor é gerada no processo de usinagem de metais. Este calor é usualmente removido em parte pelos lubrificantes, denominados de “rolling fluids”, ou fluidos de laminação. Estes fluidos não apenas reduzem o calor no metal sendo laminado, mas também servem para reduzir o atrito entre os cilindros, que são empregados no processo de laminação, e o metal sendo usinado. Isto é importante não apenas para proteger o equipamento, mas também para diminuir a força de laminação, melhorando a lubricidade do fluido. Os óleos vegetais são excelentes lubrificantes e têm sido utilizados com sucesso na formulação de fluidos de laminação (RUDNICK, 2006).

A variedade de estruturas químicas utilizadas para melhorar as propriedades e desempenho de lubrificantes é imensa. O objetivo no desenvolvimento de óleos totalmente formulados com básicos biodegradáveis consiste em empregar aditivos que sejam compatíveis com os lubrificantes e que sejam não tóxicos e biodegradáveis. Frequentemente, o destino dos aditivos no meio ambiente é desconhecido e a sua escolha é quase sempre baseada em desempenhos anteriores com óleo mineral ou com formulações sintéticas (RUDNICK, 2003).

Tanto a estrutura do antioxidante quanto a sua concentração afetam o seu desempenho, e o desempenho dos óleos vegetais é mais próximo dos óleos minerais do que de ésteres sintéticos, apesar das estruturas serem diferentes. Isto se deve aos antioxidantes naturais presentes nos óleos minerais. Os mais novos CMMO's são severamente hidrotratados, tornando-se desprovidos de estruturas que anteriormente lhes conferiam uma inerente estabilidade oxidativa (MILES, 1998).

Lubrificantes acabados de transmissão/hidráulicos comercialmente disponíveis, baseados em óleo de canola, foram avaliados em termos de desempenho de atrito e desgaste. Um dos três óleos analisados foi um óleo universal de transmissão para tratores (UTTO). O mesmo foi comparado com um óleo mineral de mesma viscosidade

na temperatura inicial do teste. Quando comparado com óleos acabados de base mineral, foram obtidos, em geral, coeficientes de atrito mais baixos e melhor resistência a “pitting” para os óleos acabados de base vegetal (óleo de canola). Foi examinada a resistência à carga de desgaste (“scuffing”) dos óleos testados utilizando o ensaio padrão FZG A/8.3/90. Os dados foram obtidos a 90°C. As temperaturas de operação observadas foram menores para os óleos com base em canola, devido às menores tensões de cisalhamento durante o contato e ao maior IV destes fluidos. Este estudo mostrou que a resistência à carga de desgaste dos óleos de transmissão/hidráulicos com base em canola foi equivalente ao óleo de base mineral de mesma viscosidade (ARNSEK e VIZINTIN, 1999).

Os óleos que apresentam baixa estabilidade oxidativa podem ser utilizados em aplicações tais como óleo supressor de poeira e em tratamento de madeira. No primeiro caso, o óleo deve permanecer líquido e estável até a aplicação do mesmo na área que necessita controle de poeira. Em seguida, a oxidação ou polimerização do mesmo se torna uma vantagem, uma vez que forma uma fina película sobre a poeira. Como já foi discutido, em aplicações como fluidos hidráulicos, é necessário um óleo muito mais estável à oxidação, devido ao mesmo estar em um sistema por um longo período, além de estar exposto a vários possíveis catalisadores, os quais acelerariam o processo de oxidação (HONARY e RICHTER, 2011).

O departamento de agricultura do governo norte-americano (USDA) propôs a implementação de um conjunto de regulamentações o qual exigiria que as agências federais utilizassem preferencialmente bioprodutos, incluindo biolubrificantes. Estes esforços ajudarão os Estados Unidos a se tornarem menos dependentes da importação de óleos estrangeiros e, ao mesmo tempo, incentivaria o uso de produtos compatíveis com o meio ambiente. Esta regulamentação ajudará também no crescimento do volume de biolubrificantes, tornando-os mais viáveis economicamente. Este programa, se implementado como proposto, fará com que as agências federais aumentem significativamente o seu uso de bioprodutos. Ele obrigará que estas agências adquiram estes produtos, onde quer que os mesmos estejam disponíveis, desde que o custo não seja significativamente maior do que um produto similar não biodegradável. Estes produtos também deverão apresentar desempenho similar ao dos produtos convencionais. A USDA está planejando assegurar que cada bioproduto contenha uma quantidade mínima de componentes biodegradáveis, para que o mesmo seja incluído em uma determinada categoria. Esta regulamentação proposta fará com que as agências governamentais comprem lubrificantes, o que inclui óleo de motor, fluido de corte e uma variedade de fluidos hidráulicos, fabricados com componentes biodegradáveis (RUDNICK, 2006).

### 3. LIPASES E BIOLUBRIFICANTES

Enzimas isoladas ou purificadas possuem um número de propriedades que tornam seu uso atrativo como catalisador em biotransformação, tais como alta eficiência catalítica (podem elevar a velocidade de uma reação de  $10^8$  a  $10^{12}$  vezes); seletividade; atuação em condições brandas de temperatura (30 a 70°C) e em pressão atmosférica (CASTRO *et al*, 2004).

Com um mercado crescente e promissor, a maior parte da produção de enzimas ainda é destinada às indústrias de detergente e amido. O mercado mundial de enzimas foi estimado em cerca de US\$ 4 bilhões por ano (SARROUH *et al*, 2012).

Enquanto o número de companhias que comercializam enzimas está próximo do milhar, o número de produtores é muito inferior. Ao todo, nos Estados Unidos e parte oeste da Europa, existem apenas cerca de 30 indústrias produtoras de enzimas. Muitos produtores são do ramo da indústria químico-farmacêutica, para os quais o lucro proveniente da comercialização das enzimas desempenha um papel pouco significativo no seu faturamento global. Cerca de 90% da produção anual provém das maiores empresas produtoras de enzimas, como Novozymes com sede na Dinamarca; Gist Brocades, na Holanda; Amano, no Japão; Solvay, Pfizer e Genencor, nos Estados Unidos (SHANLEY, 1998; apud CASTRO *et al*, 2004).

O interesse industrial por tecnologias enzimáticas vem aumentando gradativamente, principalmente nas áreas de engenharia de proteínas e enzimologia em meios não convencionais, as quais ampliaram consideravelmente o potencial de aplicação das enzimas como catalisadores em processos industriais. Entre os processos de maior interesse estão as reações de hidrólise, síntese e interesterificação de lipídeos, catalisadas por lipases. As razões do enorme potencial biotecnológico dessa enzima incluem fatos relacionados com: i) sua alta estabilidade em solventes orgânicos; ii) não requerem a presença de co-fatores; iii) possuem uma larga especificidade pelo substrato e, iv) exibem uma alta enantiosseletividade (CASTRO *et al*, 2004).

O reconhecimento dessas vantagens tem proporcionado um aumento considerável na produção e comercialização de lipases, resultando no desenvolvimento de tecnologias alternativas consistentes para utilização no setor industrial.

Embora, atualmente, as aplicações industriais das lipases estejam concentradas nas indústrias de detergentes, novas aplicações vêm se estabelecendo nos mais diversos campos, tais como indústria farmacêutica, química fina, cosméticos, oleoquímica, couros, polpa de celulose e papel, indústria de alimentos e no tratamento

de efluentes ricos em óleos e graxas. As lipases vêm, deste modo, conquistando uma faixa crescente do mercado de enzimas industriais (FREIRE e CASTILHO, 2008).

As lipases são enzimas classificadas como hidrolases (glicerol éster hidrolases, E.C. 3.1.1.3) e atuam sobre a ligação éster de vários compostos, sendo os acilgliceróis seus melhores substratos (JAEGER e REETZ, 1998). São comumente encontradas na natureza, podendo ser obtidas a partir de fontes animais, vegetais e microbianas, porém os micro-organismos são a fonte preferida, uma vez que são produzidas com altos rendimentos e produtividades, possuem grande versatilidade e maior simplicidade na manipulação ambiental e genética de sua capacidade produtiva. Lipases de diferentes origens se encontram disponíveis atualmente no mercado e, desde 1979, já ocorre o emprego em larga escala de lipases como catalisadores de processos. Inicialmente, elas eram obtidas a partir de pâncreas de animais e usadas como auxiliar digestivo para consumo humano. Em função do baixo rendimento do processo fermentativo, as lipases microbianas tinham também um custo bem mais elevado quando comparado com outras hidrolases, como proteases e carboxilases. Entretanto, os avanços registrados na tecnologia do DNA têm permitido aos fabricantes de enzimas colocarem no mercado lipases microbianas com atividade bem elevada, a um custo bem mais acessível (VULFSON, 1994). Atualmente, lipases microbianas são produzidas por diversas indústrias, como Novozymes, Amano, Gist Brocades, entre outras (CASTRO *et al*, 2004).

Dependendo da fonte, as lipases podem ter massa molecular variando entre 20 a 75 kDa, atividade em pH na faixa entre 4 a 9 e em temperaturas variando desde a ambiente até 70 °C. Lipases são usualmente estáveis em soluções aquosas neutras à temperatura ambiente apresentando, em sua maioria, uma atividade ótima na faixa de temperatura entre 30 e 40 °C. Contudo, sua termoestabilidade varia consideravelmente em função da origem, sendo as lipases microbianas as que possuem maior estabilidade térmica (CASTRO *et al*, 2004).

As lipases são biocatalisadores que têm muitas aplicações, razão pela qual a sua participação no mercado mundial de enzimas industriais cresce significativamente. Estima-se que, no futuro, elas terão importância industrial comparável à das peptidases, que hoje representam 25-40% das vendas de enzimas industriais. As lipases atuam, por definição, na interface orgânico-aquosa, catalisando a hidrólise de ligações ésteres carboxílicas para liberarem ácidos e alcoóis orgânicos. Entretanto, em ambientes com restrição de água, pode ocorrer a reação inversa (esterificação) ou, também, diversas reações de transesterificação. Sua capacidade de catalisar estas reações com elevada eficiência e estabilidade, assim como as suas propriedades

químio-, régio- e/ou enantiosseletivas, tornam estas enzimas muito atraentes e versáteis (FREIRE e CASTILHO, 2008).

Atualmente, as pesquisas em lipases se concentram na caracterização estrutural e na elucidação do mecanismo de ação, na exploração e no aprimoramento de suas propriedades enantiosseletivas, assim como na clonagem e expressão de genes de lipases de características interessantes em organismos de fácil cultivo, em larga escala. Com o auxílio da biofísica, da cristalografia e da modelagem molecular, cresce o grau de conhecimento sobre a estrutura e a relação estrutura-função das lipases (REETZ, 2002).

Verifica-se, em muitas lipases de diferentes origens, o aumento da atividade enzimática na presença de interfaces orgânico-aquosas. Isto foi primeiramente documentado para a lipase pancreática pelos pesquisadores SARDA e DESNUELLE (1958), que verificaram que a enzima era mais eficiente na superfície bidimensional de micelas. Eles sugeriram que a adsorção da lipase pancreática em uma interface água-lipídeo provoca a ativação da enzima e que isto está associado às alterações conformacionais da mesma. Este fenômeno, denominado “ativação interfacial”, foi empregado, por muito tempo, na distinção entre lipases e esterases.

Na década de 90, observou-se que várias lipases não são passíveis de ativação interfacial. Por esta razão, a caracterização de lipases com base no conceito de ativação interfacial foi substituída pela definição de que lipases são carboxilesterases capazes de catalisar a hidrólise de acilgliceróis de cadeias média e longa. Mesmo assim, o fato de a maioria das lipases conhecidas ser ativada na interface orgânico-aquosa, propiciou o desenvolvimento de diversas metodologias de estudo da ativação interfacial. Estes estudos bioquímicos e biofísicos forneceram dados interessantes sobre a estereosseletividade de lipases, assim como sobre a influência de propriedades macroscópicas do meio. Foram, porém, os estudos cristalográficos que mostraram, pela primeira vez, o rearranjo conformacional que ocorre na interface água-lipídeo (VERGER, 1997).

A estrutura tridimensional da lipase fúngica de *Rhizomucor miehei* e da lipase pancreática foram determinadas em 1990. Desde então, mais de onze estruturas de lipases já foram determinadas, das quais, com exceção da lipase pancreática, todas são de origem microbiana. Estas enzimas mostram uma característica padrão conhecida como o dobramento de  $\alpha/\beta$  hidrolase (JAEGER e REETZ, 1998).

No sítio ativo, há uma tríade catalítica composta de um resíduo nucleofílico (serina) e dois resíduos (ácido aspártico ou glutâmico e histidina) desempenhando o papel de um sistema de liberação de carga. O sítio ativo é estabilizado por redes de ligações de hidrogênio, para cada enzima em particular, e a cavidade do oxianion é

usualmente formada por dois átomos de nitrogênio do “esqueleto peptídico” da rede (NH dos grupos amida) próximos ao nucleófilo. A maioria das lipases, como as de *Rhizomucor miehei* (RmL) (mas não as lipases B de *Candida antarctica* (CaL-B)) apresentam a estrutura em  $\alpha$  hélice denominada tampa, a qual cobre o sítio ativo e possui um papel importante na atividade da enzima, e um túnel para reconhecimento do substrato, o qual se inicia perto da serina catalítica e se estende até as cercanias da tampa hélice (SIMAS *et al*, 2011).

O mecanismo de reação tipo Ping-Pong Bi-Bi, considerando uma reação de transesterificação, é apresentado esquematicamente na Figura 10 (em CaL-B e RmL, os resíduos da tríade catalítica são numerados como Ser105-His224-Asp187 e Ser144-His257-Asp203, respectivamente), onde EtOAc representa o primeiro substrato e um álcool (ROH), o segundo substrato. Esta reação também envolve dois complexos intermediários tetraédricos (IT), os quais são relacionados aos seus estados de transição correspondentes. O primeiro complexo IT resulta do ataque nucleofílico da serina catalítica ao primeiro substrato, e o segundo complexo IT resulta do ataque nucleofílico do segundo substrato ao complexo acil-enzima (ou seja, o primeiro complexo IT).

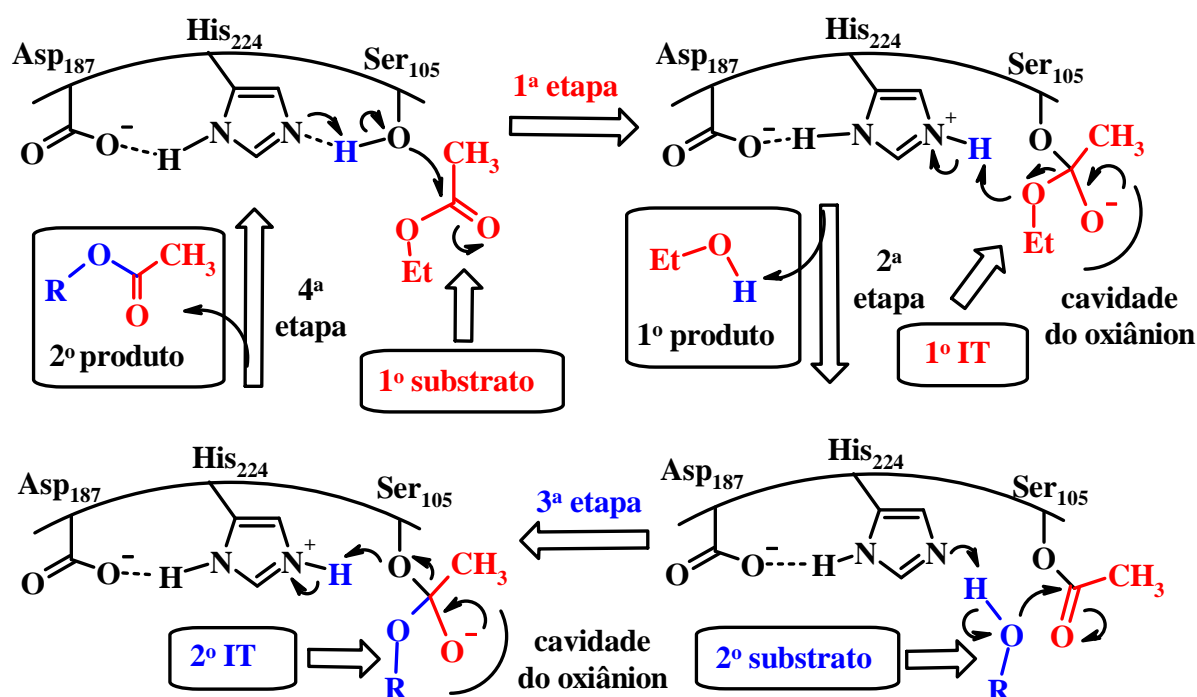


Figura 10: Mecanismo geral esquemático de reações catalisadas por lipases, considerando uma reação de transesterificação (tríade catalítica numerada como CaL-B, ou seja, Ser105-His224-Asp187; primeiro substrato = EtOAc, segundo substrato = ROH) (adaptado de SIMAS *et al*, 2011).

A determinação da estrutura tridimensional da lipase fornece uma explicação elegante para a ativação interfacial. Como afirmado anteriormente, o sítio ativo das lipases é coberto por uma estrutura em  $\alpha$  hélice, denominada de tampa (ou borda). Embora as lipases tenham competência catalítica na forma cristalina, seus sítios ativos, formados pela tríade serina-histidina-aspartato/glutamato, não estão expostos na superfície da proteína e são inacessíveis diretamente ao substrato. Quando a enzima é submetida a meios aquosos, a exposição do sítio é termodinamicamente desfavorável, permanecendo então na conformação “fechada” ou inativa (Figura 11). No entanto, na presença de substratos hidrofóbicos (interfaces) observa-se uma mudança na estrutura da enzima para a conformação ativa ou “aberta”, tornando o sítio ativo da enzima totalmente acessível ao substrato, explicando assim o fenômeno de ativação interfacial. Já foi verificado, no entanto, que algumas lipases não apresentam esta “tampa”, como a lipase B de *Candida antarctica* (JAEGER e REETZ, 1998).



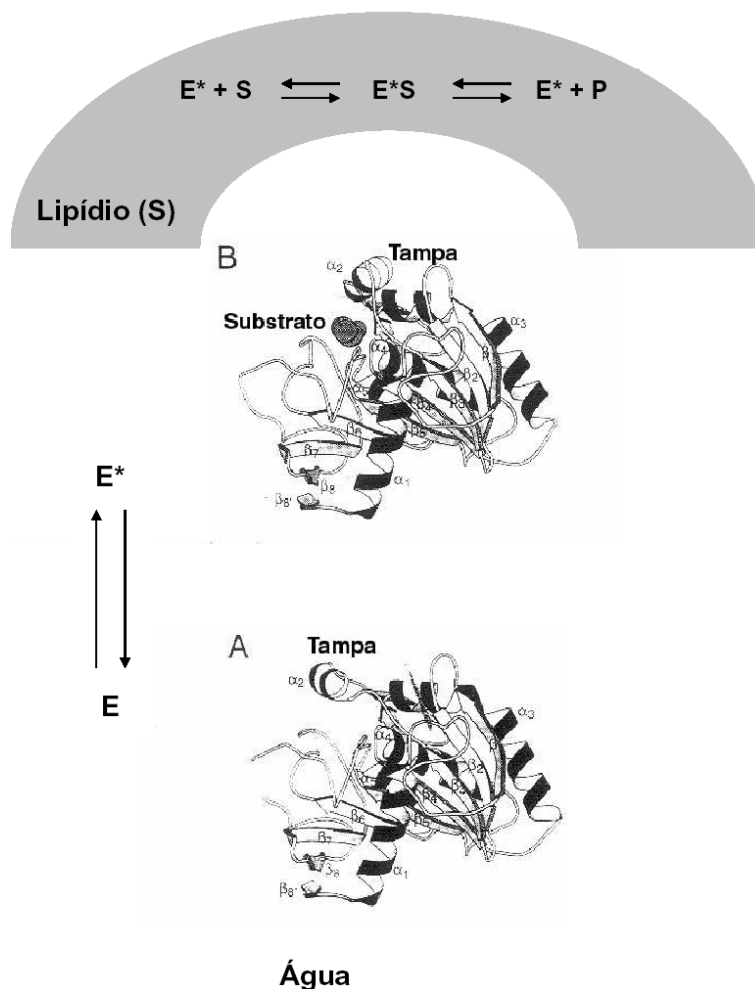


Figura 11: Esquema das conformações fechada – E (A) e aberta – E\*S (B), com a indicação da estrutura secundária, da lipase de *Rhizomucor miehei* (adaptado de JÄÄSKELÄINEN *et al*, 1998).

Os estudos de cristalografia mostraram, também, que a maior parte das lipases estudadas têm o sítio recoberto, sugerindo que o estado inativo provavelmente prevalece em solução (FREIRE e CASTILHO, 2008). A reatividade depende, portanto, de um rearranjo conformacional ou da posição da “tampa” da enzima que permita o acesso do substrato ao sítio ativo, movimento este efetivamente verificado para diferentes lipases. A lipase de *Candida rugosa*, por exemplo, quando cristalizada em

duas diferentes condições, mostra, respectivamente, o sítio recoberto e o sítio exposto.

De forma geral, quando a enzima é cristalizada na presença de inibidores ou co-fatores, a estrutura obtida está sempre na conformação aberta. No caso de lipases não complexadas, o estado conformacional da estrutura cristalina depende da composição e das propriedades microscópicas da solução. Em polietileno glicol (PEG), por exemplo, obtém-se geralmente a conformação fechada, enquanto que na presença de alcoóis e detergentes, obtém-se a forma aberta. Assim, as estruturas de lipases até hoje determinadas são geralmente divididas em duas categorias: as que têm o sítio ativo acessível ao solvente (estrutura aberta) e as que têm o sítio ativo inacessível ao solvente (estrutura fechada). No caso de algumas lipases, ambas as estruturas foram observadas, levantando a questão da relevância destas formas para a atividade destas enzimas. O fato de se observar as conformações aberta e fechada de uma família de lipases homólogas, e dentre diferentes famílias, sugere que estes estados são importantes para a função destas enzimas. A baixa atividade lipolítica observada na ausência de interfaces, por um lado, indica que em meios aquosos as estruturas fechadas predominam, mas que, por outro lado, as estruturas abertas também estão presentes, ao menos de forma transiente (FREIRE e CASTILHO, 2008).

A superfície de muitas lipases tem caráter mais hidrofóbico na região que contém a tampa. A abertura da tampa para expor o sítio ativo reforça este caráter, pois expõe uma grande superfície hidrofóbica que recobre, simultaneamente, a superfície hidrofílica antes exposta. O caráter mais hidrofóbico da face que contém o sítio ativo também pode ser verificado em cutinases, uma classe de enzimas que não tem ativação interfacial (PROMPERS *et al*, 1999).

As estruturas tridimensionais das lipases conhecidas até hoje mostram que o grau de mobilidade da “tampa” varia fortemente, encontrando-se desde casos em que parece haver dois estados extremos – aberto e fechado – com estados de energia significativamente inferiores aos dos estados de transição, até casos com tampas muito móveis, com vários estados intermediários de energias comparáveis (FREIRE e CASTILHO, 2008).

### **3.1 Aplicações das Lipases**

A capacidade das lipases de catalisar tanto a hidrólise de ésteres, quanto, em meios não aquosos ou restritos em água, as reações de esterificação, interesterificação e transesterificação, permite que estas enzimas sejam utilizadas na síntese regioseletiva ou na estereosseletiva de alcoóis, ácidos carboxílicos e aminas,

para originar produtos opticamente ativos (ésteres ou amidas), ampliando consideravelmente as possibilidades de aplicações comerciais destas enzimas. Por isso, as lipases são excelente alternativa para as sínteses químicas clássicas, com aplicação nas indústrias de alimentos, de detergentes, oleoquímica, farmacêutica, de química fina, de cosméticos e fragrâncias, de polpa e papel, de couro, de biossensores e no tratamento de efluentes ricos em óleos e graxas (FREIRE e CASTILHO, 2008).

As lipases catalisam uma série de diferentes reações. Além de quebrar as ligações de éster de triacilgliceróis com o consumo de moléculas de água (hidrólise), as lipases são também capazes de catalisar a reação reversa sob condições microaquosas, como por exemplo, a formação de ligações éster, a partir de um álcool e ácido carboxílico (síntese de éster). Estes dois processos básicos podem ser combinados numa seqüência lógica para resultar em reações de interesterificação (acidólise, alcoólise e transesterificação), dependendo dos reagentes de partida empregados (Figura 12) (CASTRO *et al*, 2004).

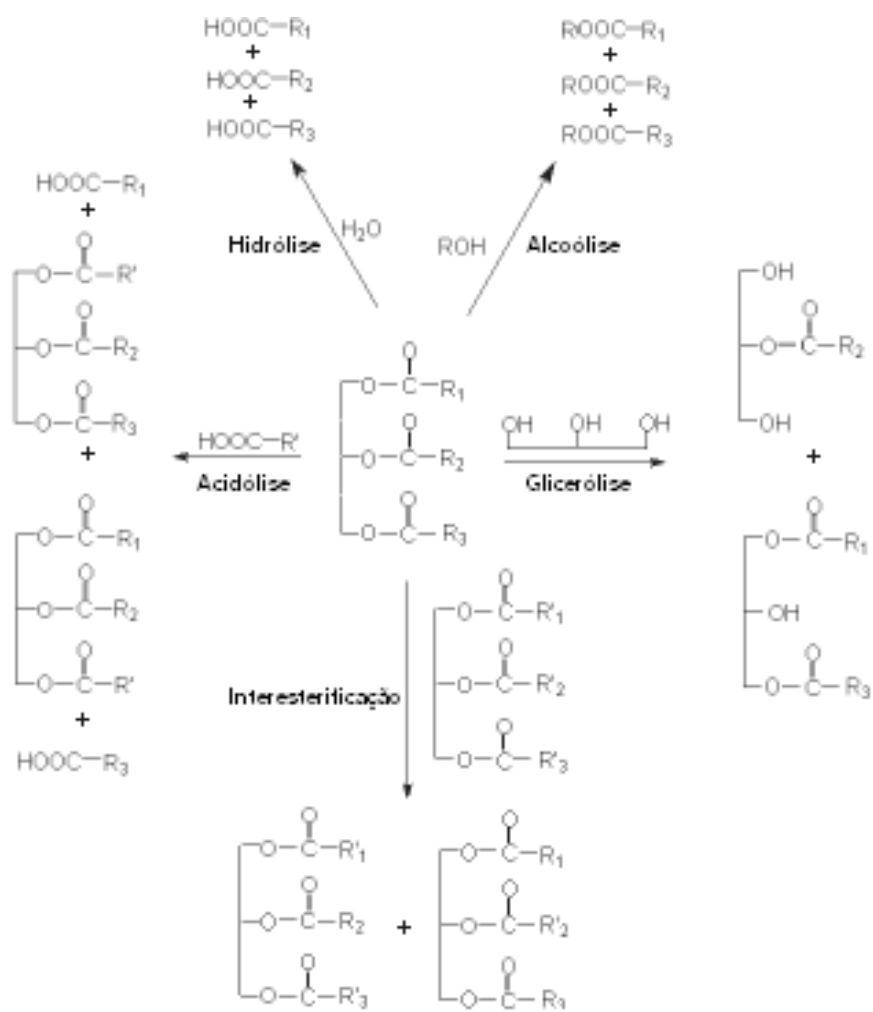


Figura 12: Representação esquemática das reações catalisadas pelas lipases.

Outros compostos, além de água e álcool, podem ser utilizados como nucleófilos em reações catalisadas por estas enzimas. Desta forma, as lipases podem participar de reações como aminólises, tiotransesterificações e oximólises, em solventes orgânicos, com elevada seletividade (FABER, 1997).

Para aplicação industrial, a especificidade da lipase é um fator crucial. A enzima pode ser específica com relação à molécula ácida ou alcoólica do substrato. As lipases são divididas em 3 grupos baseados em sua especificidade (FACCIO, 2004). Lipases não específicas (ex: produzidas por *Candida rugosa*, *Candida antarctica*, *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium viscosum* e *Pseudomonas* sp.) quebram as moléculas de acilglicerol na posição randômica, produzindo ácidos graxos livres, glicerol, monoacilgliceróis e diacilgliceróis como intermediários. Neste caso, os produtos são similares àqueles produzidos por catálise química, porém com menor grau de termodegradação, devido à temperatura empregada ser bem inferior (KAZLAUSKAS e BORNSCHEUER, 1998).

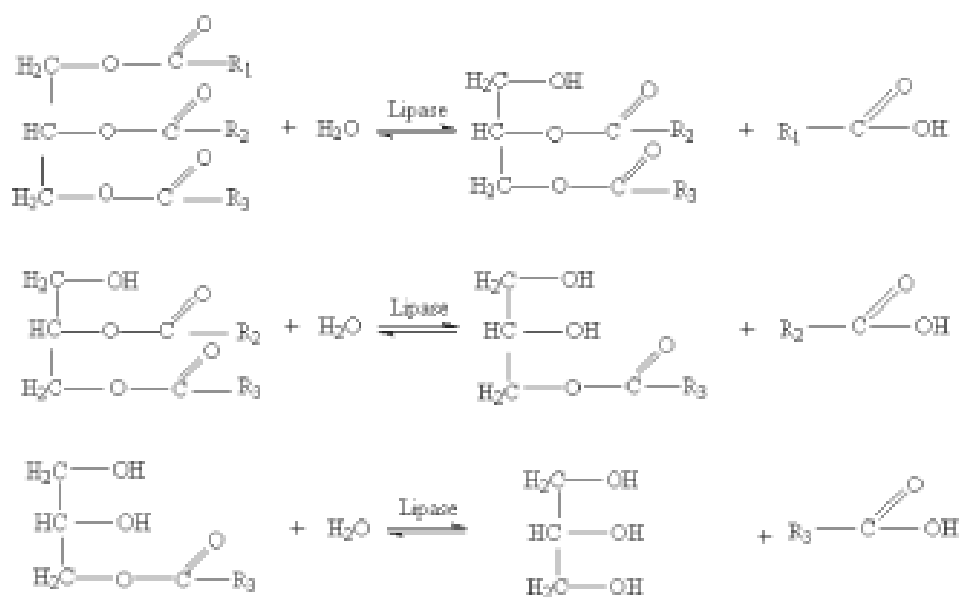
Lipases 1,3 específicas (ex: de *Rhizomucor miehei*, *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, *Humicola lanuginosa*, *Rhizopus delemar*, *Rhizopus oryzae*, *Candida lipolytica*, *Rhizopus niveus* e *Penicillium roquefortii*) liberam ácidos graxos das posições 1 e 3 e formam, por esta razão, produtos com composições diferentes daquelas obtidas pelas lipases não-regiosseletivas, ou mesmo por catalisadores químicos. Lipases ácido graxo específicas são enzimas com ação específica na hidrólise de ésteres, cujos ácidos graxos são de cadeia longa insaturada com duplas ligações, em *cis* no carbono 9. Ésteres com ácidos graxos insaturados, ou sem insaturação no carbono 9, são lentamente hidrolisados. Este tipo de especificidade não é comum entre as lipases e o exemplo mais estudado até hoje é a lipase de *Geotrichum candidum*. Esta habilidade de produzir novos tipos de misturas de triacilglicerídeos utilizando lipases regioespecíficas é uma das características mais interessantes para a aplicação no setor de óleos e gorduras (CASTRO *et al*, 2004).

O progresso de reações de transesterificação entre óleos vegetais e ácidos graxos ou ésteres de ácidos graxos pode ser acompanhado por meio das mudanças nas composições dos ácidos graxos das várias espécies. A composição dos ésteres de ácidos graxos transesterificados pode ser avaliada por cromatografia líquida (HPLC) ou cromatografia gasosa (GC). Para muitas lipases, um modelo cinético muito simples de pseudo-primeira ordem, baseado em análises de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) dos óleos vegetais ou dos ácidos graxos livres, pode ser utilizado para o cálculo das taxas de reação de transesterificação e da atividade catalítica. Este modelo simples se adequa bastante bem para lipases 1,3-

regioespecíficas ou para completamente não seletivas, mas não pode ser utilizado para lipases ácido graxo ou regio ou estereoseletivas. Para estes tipos de catalisadores são necessários modelos cinéticos mais complexos. Modelos cinéticos de variada complexidade e sofisticação têm sido desenvolvidos por vários grupos para a descrição dos processos de transesterificação enzimática (GUNSTONE e PADLEY, 1997). Estes modelos podem ser aplicados em reações catalisadas por diferentes tipos de lipases e utilizados na simulação e na predição de efeitos de parâmetros tais como concentração de água e de diacilgliceróis, concentração dos reagentes, limitações de transferência de massa e atividade do catalisador, na taxa de reação e no rendimento do produto. Em uma reação de primeira ordem a velocidade é diretamente proporcional à concentração do reagente, e esta é a realidade da maioria das reações catalisadas por lipases.

A versatilidade das lipases tem sido explorada ou para substituir processos existentes, ou para produzir uma série de compostos considerados praticamente inviáveis de serem obtidos por via química convencional. Esta habilidade catalítica tem sido aplicada na hidrólise de gorduras para produção de ácidos graxos, esterificação ou interesterificação de gorduras e outros lipídeos para preparação de produtos alimentícios ou não alimentícios (CASTRO *et al*, 2004).

A reação típica catalisada pelas lipases em meio aquoso é a hidrólise de éster. Esta reação ocorre via hidrólise sequencial dos grupos acila no glicerídeo, de tal forma que, num dado momento, a mistura reacional contém não somente triglicerídeo, água, glicerol e ácidos graxos, como também diacilgliceróis e monoacilgliceróis (Figura 13). O processo enzimático não somente reduz os requerimentos energéticos como também previne a decomposição de alguns ácidos graxos.



**Figura 13: Hidrólise sequencial dos grupos acila no glicerídeo, catalisada por lipases.**

O procedimento usual é realizado em reatores agitados, contendo gordura na fase líquida e solução aquosa da enzima. A duração global do processo é de aproximadamente 72 h, sendo alcançadas taxas de conversão que variam entre 90-95% e concentrações finais de glicerol na fase aquosa entre 10-20%.

O processo de hidrólise enzimática necessita de dois requisitos para a operação: a formação de uma interface lipídeo/água e a absorção da enzima nesta interface. Assim, quanto maior a interface, maior a quantidade de enzima adsorvida, acarretando taxas de hidrólise mais elevadas. Diferentes parâmetros podem influenciar o desempenho da hidrólise de óleos e gorduras e, conseqüentemente, diversas técnicas têm sido utilizadas para aumentar a taxa de hidrólise de gorduras usando lipases como catalisadores (BALCÃO *et al*, 1996).

Em meio orgânico, as lipases catalisam a transferência de grupos acila de compostos doadores para uma ampla faixa de compostos aceptores diferentes da água. Entre os possíveis processos catalisados pelas lipases em meio orgânico, a síntese de ésteres apresenta-se como uma vertente bastante promissora, conforme atestam os processos em escala industrial (YAHYA *et al*, 1998).

Industrialmente, a esterificação catalisada por lipase foi comercializada pela Unichema International para produção de ésteres de ácidos graxos de alto grau de pureza e qualidade, como o isopropilmiristato, isopropilpalmitato e 2-etilhexilpalmitato, que são ingredientes empregados na formulação de cremes, cosméticos e outros produtos de higiene. O processo em questão é conduzido em reatores agitados,

utilizando uma preparação de lipase imobilizada numa temperatura entre 50-70 °C. A água gerada durante a reação de esterificação é removida por destilação a vapor. O processo permite a recuperação da preparação enzimática e sua reutilização em bateladas subseqüentes (CASTRO *et al*, 2004).

A interesterificação é o processo mais usado para a obtenção de óleos e gorduras com funções desejáveis na manufatura de produtos específicos. Esse processo consiste em um rearranjo na molécula de glicerol possibilitando modificações das propriedades dos óleos e gorduras, por meio de um catalisador que, em sua forma ativa, promove a separação dos ácidos graxos da cadeia inicial.

### **3.1.1 Uso de lipases na síntese de biodiesel**

Uma área que ganhou relevância nos últimos anos é o emprego de lipases na produção de biodiesel, por meio da transesterificação de triglicerídeos com alcoóis de cadeia curta. Os ésteres de ácidos graxos de cadeia longa produzidos na reação podem ser empregados como combustível, com a vantagem de não acarretar a geração de óxidos de enxofre e de particulados. No entanto, apesar das vantagens do uso de enzimas, plantas de produção de biodiesel utilizando lipases em escala industrial ainda não são uma realidade. A razão para isso reside na existência de alguns desafios os quais ainda não foram superados antes que estes biocatalisadores se tornem viáveis para a produção de biodiesel, tais como custo elevado, baixa produtividade e inibição por reagentes e produtos (FREIRE *et al*, 2011).

Diversas lipases e óleos vegetais, como óleos de mamona, de girassol e de soja, estão sendo utilizados como substrato para a reação de transesterificação (ZHENG *et al*, 2009; ROSA *et al*, 2008). OLIVEIRA *et al* (2004) investigaram o emprego de duas diferentes lipases comerciais em meio orgânico contendo n-hexano. Por meio de planejamento estatístico de experimentos, os autores estudaram a influência da razão molar óleo de mamona/etanol, da temperatura e das concentrações de enzima e de água sobre a conversão, a qual atingiu o nível máximo de 98% quando uma enzima comercial de *Rhizomucor miehei* (Lipozyme<sup>®</sup> IM) foi usada.

Há alguns fatores que influenciam a conversão em uma transesterificação enzimática, tais como o substrato utilizado (óleo vegetal ou álcool), a razão molar entre os substratos, o teor de água no meio reacional, a utilização ou não de solventes, a temperatura, se a enzima é em pó ou imobilizada, a concentração de lipase, entre outros. Apesar de muitos trabalhos na literatura descreverem a síntese de biodiesel utilizando diferentes lipases, é difícil fazer qualquer generalização a respeito das

condições ótimas de reação, uma vez que lipases de fontes diferentes tendem a responder de forma distinta a mudanças no meio reacional (FREIRE *et al*, 2011).

Para tornar economicamente viável o uso de lipases como catalisadores de processos industriais, diversas técnicas podem ser utilizadas. Como micro-organismos selvagens produzem, freqüentemente, níveis baixos de enzimas, uma técnica muito promissora é a evolução dirigida. Trata-se de uma técnica baseada na metodologia tradicionalmente empregada em vários campos da microbiologia, de promover mutações em micro-organismos e selecionar as cepas mutantes mais produtivas, que nos anos recentes foi automatizada (*high-throughput screening*). Por meio da evolução dirigida, além das cepas mais produtivas, pode-se obter cepas produtoras de lipases com novas especificidades ou capazes de atuar sobre substratos não usuais (FREIRE *et al*, 2011).

Com o desenvolvimento dos conhecimentos e das técnicas associadas à biologia molecular, observa-se, cada vez mais, a tendência de expressar genes que codificam lipases de características interessantes em micro-organismos de mais fácil cultivo em larga escala.

Outra área que pode contribuir para a obtenção de enzimas com os requisitos necessários para o uso como catalisadores industriais é a engenharia de proteínas, em que se alteram as propriedades das proteínas de forma aleatória ou através de mutagênese sítio-dirigida.

Embora estas técnicas forneçam resultados promissores no sentido de gerar lipases com características mais apropriadas a sua utilização como catalisadores de processos industriais, muito esforços também devem ser empregados no desenvolvimento de novos biocatalisadores imobilizados, sistemas de reação multifásicos e processos mais econômicos de produção e purificação de lipases.

### **3.1.2 Uso de lipases na síntese de ésteres biolubrificantes**

BHATTACHARYA e GHOSHRAY (1992) estudaram reações de esterificação enzimática do ácido ricinoléico com diferentes alcoóis monohídricos alifáticos de cadeia longa, e a preparação de monoglicerídeos e ésteres de alcoóis monohídricos dos ácidos graxos do óleo de mamona a partir de reações de alcoólise enzimática do óleo de mamona com alcoóis monohídricos alifáticos de cadeia longa. Foi utilizada uma lipase de *Mucor miehei* (Lipozyme TM, Novo) em concentrações variando entre 2 a 12% em peso do total. As reações foram realizadas com um pequeno excesso do álcool e a uma temperatura de 60°C. Após ser seco sob vácuo, o éster formado foi confirmado por meio de infravermelho.



Também se procedeu o acompanhamento das reações por meio de cromatografia em camada fina (TLC), realizando-se a comparação entre os ésteres obtidos por alcoólise com aqueles obtidos diretamente por esterificação enzimática. Além disso, determinou-se as seguintes propriedades: ponto de fusão, índice de saponificação, densidade, índice de refração, índice de iodo e viscosidade cinemática.

A conversão máxima atingida foi cerca de 90% após 240 minutos de tempo de reação para a reação de esterificação enzimática, enquanto para a reação de alcoólise do óleo de mamona a conversão foi de 65%.

Os ésteres obtidos foram: decil ricinoleato, dodecil ricinoleato, tetradecil ricinoleato, hexadecil ricinoleato e octadecil ricinoleato.

A alcoólise dos ácidos graxos do óleo de mamona por uma enzima específica, como a *Mucor miehei*, produz monoglicerídeos como subprodutos, os quais apresentam várias aplicações industriais.

LINKO *et al* (1998) estudaram o uso de lipases na síntese de ésteres de trimetilolpropano com óleo de canola. A transesterificação para a síntese de tri-ésteres de trimetilolpropano a partir de ácidos graxos do óleo de canola foi conduzida tanto à pressão atmosférica em tubos fechados ou abertos de 13 mL quanto à pressão reduzida (2,0 – 13,3 kPa). Após a reação, a amostra foi extraída com acetona e a enzima precipitada foi removida por centrifugação. Os experimentos foram acompanhados por cromatografia em camada fina (TLC) e cromatografia líquida (HPLC).

Lipases comerciais são vendidas com base em sua atividade hidrolítica, não havendo garantia no que diz respeito a sua atividade de esterificação. WU *et al*, 1996, demonstraram que lipases oriundas de mesmos micro-organismos, em diferentes bateladas de fermentação, de similar atividade hidrolítica, podem variar largamente no que se refere as suas atividades de esterificação. Conseqüentemente, é necessário se testar lipases em diversas condições de processo para se determinar sua atividade sintética desejada. Após testar 25 lipases comerciais na ausência de solventes orgânicos adicionais e utilizando a síntese do oleato de butila como sistema modelo, os autores encontraram que os maiores rendimentos foram obtidos com as lipases de *Candida rugosa*, *Chromobacterium viscosum*, *Rhizomucor miehei* e *Pseudomonas fluorescens*. O rendimento de éster foi afetado pelo teor inicial de água no sistema, pela quantidade de lipase, e pela razão molar entre 1-butanol e ácido oléico.

Ao contrário da síntese do oleato de butila, a reação do óleo de canola com 2-etil-1-hexanol apresentou baixa conversão com o uso de um excesso do álcool. Empregando-se a lipase de *C.rugosa*, uma conversão de 98% do óleo de canola foi atingida em 24 h sem a presença de óleo de canola residual e praticamente isento de

subprodutos. Altos rendimentos também foram obtidos com lipases de *Ch. viscosum* e *P. fluorescens*. *C. rugosa* foi escolhida para estudos posteriores devido a sua superioridade em catalisar ambas as reações de esterificação e transesterificação, além de sua disponibilidade comercial em grandes quantidades em um custo relativamente baixo.

A importância do controle do teor de água (atividade de água) em sínteses de ésteres catalisadas por lipases tem sido bastante enfatizada (WU *et al*, 1996; LÄMSA, 1995). A água é essencial para as reações enzimáticas. Normalmente, uma quantidade mínima de água é necessária para a catálise enzimática ocorrer, sendo a síntese de ésteres favorecida sob disponibilidade restrita de água (baixa atividade de água). A síntese de ésteres e a hidrólise são processos reversíveis, e o equilíbrio entre eles pode ser deslocado em direção a síntese tanto por um excesso de um dos substratos quanto pelo controle do teor de água do sistema. A água é essencial para a lipase, a qual se torna inativa devido a mudanças estruturais na ausência da mesma. Assume-se que em um ambiente com atividade de água muito baixa, o espaço conformacional da enzima é restrito. Em ambientes completamente anidros, não há espaço para as mudanças conformacionais necessárias à ligação ao substrato. O autor (LÄMSA, 1995) utilizou 3% de água obtendo uma conversão de 90% na reação entre óleo de canola e 2-etil-1-hexanol, catalisada por *C. rugosa*.

Na reação de transesterificação do trimetilolpropano (TMP) e éster metílico do óleo de canola (RMe), o autor (LÄMSA, 1995) utilizou inicialmente a lipase imobilizada comercial *R. miehei* Lipozyme IM 20, obtendo conversão de ésteres de TMP da ordem de 90% sem a adição de água. Em seguida, utilizou a lipase em pó de *C. rugosa* sem nenhum solvente orgânico adicional. A ausência de solvente permite maiores concentrações de substrato e produto, simplifica os processos pós-reação e melhora a segurança. Com uma temperatura de 47°C e 15% de água adicionada, foi obtida uma conversão em tri-éster de TMP de 75% em 24h e de 98% em 68h, com a não formação de subprodutos nem a presença de RMe residual.

UOSUKAINEN *et al* (1998) também estudaram a transesterificação química e enzimática do TMP com éster metílico do óleo de canola (RMe). Na catálise química foi utilizado o metilato de sódio (0,7% em peso) e a reação ocorreu a uma temperatura de 120°C por 10 horas, com uma conversão de 98% em tri-ésteres de TMP. Já na catálise enzimática, foi utilizada a lipase de *Candida rugosa* em pó, para a qual foram testados vários suportes de imobilização. As condições reacionais foram mais brandas, sob vácuo e com temperatura de 47°C. Após 68 horas, obteve-se uma conversão em tri-ésteres de TMP de 95%.

Em função de estudos anteriores que apontavam claramente que a conversão de RMe em ésteres de TMP poderia aumentar com o uso de uma lipase imobilizada, foram investigados vários materiais suportes para imobilização da *C. rugosa*. As conversões mais altas em ésteres de TMP, da ordem de 95%, foram obtidas com a lipase imobilizada em Celite R-630. Com outros suportes (Duolites ES-561 e ES-762, GDC 200, GCC e HPA 25) foram obtidas conversões de aproximadamente 70%. Os autores também testaram a lipase comercial imobilizada *Rhizomucor miehei* Lipozyme IM 20, obtendo conversões de 90%.

GHOSH e BHATTACHARYYA (1998) realizaram a esterificação entre ácido hidroxi-esteárico e alcoóis alifáticos de cadeia longa, como octanol, dodecanol, entre outros. Para tal utilizaram a lipase comercial imobilizada *Rhizomucor miehei* Lipozyme IM 20. Estas reações apresentaram conversões máximas a 65°C, sob vácuo de 2-5 mm de Hg, sem solvente, com 10% em peso de lipase e com tempo de duração de 360 minutos. A lipase utilizada foi bastante específica, evitando reações indesejáveis de formação de éster através do grupamento hidroxila do ácido. Desta forma, a enzima permitiu que não houvesse a deformação das estruturas básicas do hidroxí-ácido e do álcool utilizados na reação.

Segundo MARTY *et al* (2002) a reação de transesterificação do óleo de girassol com alto teor de ácido oléico (HOSO) com butanol, catalisada pela lipase comercial imobilizada *Rhizomucor miehei* Lipozyme, pode ser estudada através de um modelo cinético simplificado, baseado em Ping Pong Bi Bi com mecanismo de inibição competitiva de álcool.

Foi utilizado um sistema sem solvente, o qual apresenta as vantagens de oferecer maior segurança, redução nos custos de extração do solvente, aumento na concentração dos reagentes e não uso de solventes inflamáveis, tóxicos e caros. A transesterificação do HOSO com butanol teve uma conversão de 94%.

A inibição da lipase pelo álcool é geralmente observada em reações de esterificação e transesterificação. Muitos autores têm demonstrado que para estes tipos de reações o mecanismo cinético é do tipo Ping Pong Bi Bi com inibição competitiva do álcool. Na reação discutida neste trabalho, o mecanismo é de fato muito complexo devido à presença de três reações consecutivas desde o triglicerídeo até os produtos. Entretanto, os autores propuseram simplificar o problema através de uma aproximação macroscópica, consistindo em reduzir a reação a uma única reação: uma molécula de triglicerídeo é convertida em três moléculas de ésteres. Este modelo mais simples favorece a obtenção de uma equação de velocidade que permita o aumento de escala para um reator industrial batelada ou para um contínuo. A equação 8 descreve este modelo.

$$V_i = \frac{V_{\max} * [\text{Trigly}] * [\text{But}]}{K_{m_{\text{trigly}}} * [\text{But}] * \left(1 + \frac{[\text{But}]}{K_i}\right) + K_{m_{\text{but}}} [\text{Trigly}] + [\text{Trigly}] * [\text{But}]} \quad (\text{eq. 8})$$

onde:

[Trigly] e [But] são as concentrações molares iniciais de HOSO e butanol (mM);

K<sub>m</sub>(trigly) e K<sub>m</sub>(but) as constantes de Michaelis aparentes (mM);

K<sub>i</sub> a constante aparente de inibição do butanol (mM);

V<sub>max</sub> a velocidade máxima inicial da reação (μmol·min<sup>-1</sup>·g<sup>-1</sup>)

Comparações entre dados modelados e experimentais foram realizadas com excelentes concordâncias entre os mesmos (desvios inferiores a 10%).

DOSSAT *et al* (2002) mostraram as diferenças entre os sistemas com e sem solvente para a reação de transesterificação do óleo de girassol com alto teor de ácido oléico (HOSO) com butanol. Esta reação foi estudada em um reator contínuo “plug flow”, utilizando um sistema sem solvente com a lipase comercial *Rhizomucor miehei*, imobilizada em resina aniônica macroporosa Duolite A568 (Lipozyme). Ao contrário do que foi observado empregando-se n-hexano como solvente, foi obtido um estado estacionário com uma mistura contendo éster butílico (65%), monoglicerídeo (26%), diglicerídeo (6%) e triglicerídeo residual (3%). A principal diferença entre o processo sem solvente e o processo com n-hexano está no fato de que após um período de transição não ocorre mais a formação de glicerol. Com n-hexano, o glicerol produzido é inteiramente absorvido no suporte da enzima, levando a um obstáculo hidrofílico para o transporte de lipídeos. O processo estudado favoreceu o desenvolvimento de um reator “plug flow” que operou por 3 meses sem apresentar qualquer perda de atividade. Foi construída uma planta piloto utilizando 50g de enzima com desempenho idêntico ao obtido pelo reator de laboratório.

LÄMSA (1995) realizou a síntese química do éster 2-etil-hexil do óleo de canola, utilizando catalisadores alcalinos e ácidos. O progresso da reação foi acompanhado por TLC e HPLC e o produto obtido foi neutralizado com água ácida ou alcalina, dependendo do catalisador utilizado, e lavado três vezes com água a 50°C. Esta mesma síntese também foi realizada com catalisador enzimático por 72 horas, com a lipase (*Candida rugosa*) sendo separada por centrifugação. Com 3,3% de lipase obteve-se uma conversão de 80% em 3 horas e com 14,6% de lipase a conversão foi de 100% em 1 hora. Além da *Candida rugosa* foram testadas as lipases *M. miehei*, *Pseudomonas fluorescens* e *Chromobacterium viscosum*, todas imobilizadas em Amberlyte XAD-7.

O autor procedeu também a síntese química do éster de trimetilolpropano com óleo de canola da seguinte forma: o éster metílico do óleo de canola foi reagido com

TMP a 120°C por 8 horas, utilizando metilato de sódio como catalisador. Após esfriar, o produto foi neutralizado com água ácida, lavado com água quente (50°C) e seco com sulfato de sódio anidro. O acompanhamento foi feito com TLC e HPLC. Esta mesma síntese também foi realizada com lipase, sendo que neste caso além do éster metílico e do TMP, houve a adição de água (10% m/m) e da lipase (40% m/m), com uma temperatura de reação de 42°C. Todas as reações ocorreram sob pressão reduzida (3,3MPa). A melhor conversão (80%) foi obtida após 24 horas de reação. Durante as sínteses foi feito um planejamento experimental, com base na conversão obtida, para escolha do melhor catalisador, quantidade de catalisador, razão molar éster metílico / TMP, temperatura, tempo de reação e pressão. No caso da catálise enzimática, além da escolha da lipase (*Candida rugosa* apresentou os melhores resultados), estudou-se também a quantidade de água a ser adicionada.

Em síntese, a maior parte dos trabalhos encontrados na literatura evidenciou a viabilidade do uso de lipases como biocatalisadores na síntese de ésteres a partir de óleos vegetais, tanto para uso como biodiesel, como para lubrificantes. A experiência adquirida nestes trabalhos anteriores foi de grande importância na definição das variáveis de processo adotadas na elaboração desta tese de doutorado, a qual trouxe como inovação a utilização da lipase de *Candida rugosa* em reações de síntese de biolubrificantes derivados do óleo de mamona.

## 4. MATÉRIAS PRIMAS PARA OS BIOLUBRIFICANTES

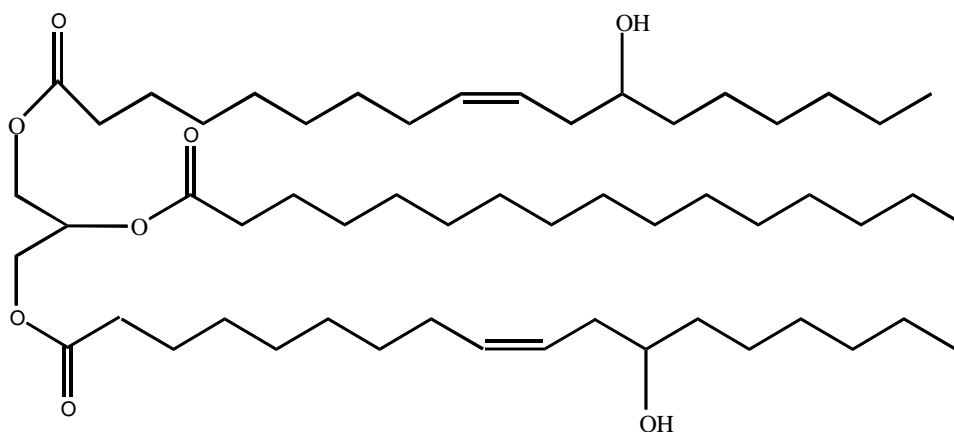
### 4.1 A Mamona e seus Derivados

Segundo AZEVEDO e LIMA (2001), a mamona (*Ricinus communis*) ou rícino é um arbusto de cujo fruto se extrai um óleo de excelentes propriedades, de largo uso industrial. Conhecido desde a antiguidade por suas propriedades medicinais e como azeite para iluminação, deixou, no século XX, de ter na farmacopéia sua grande utilidade. Nos nossos dias, os grandes consumidores são as indústrias químicas e de lubrificantes.

A mamona foi trazida para o Brasil pelos portugueses, com a finalidade de utilizar seu óleo para iluminação e lubrificação de eixos de carroças. O clima tropical, predominante em nosso país, facilitou o seu alastramento. Desta forma, hoje se pode encontrar a mamona em quase toda a extensão territorial do país, como se fosse uma planta nativa, e em culturas destinadas à produção de óleo (AZEVEDO e LIMA, 2001).

A mamona é uma planta especial, originária de clima tropical, com elevada capacidade de resistência à seca. Da industrialização das suas sementes se obtém, como produto principal, o óleo (47%) e, como subproduto, a torta de mamona que pode ser utilizada como fertilizante na agricultura.

O óleo de mamona, também conhecido no Brasil como óleo de rícino, ou, internacionalmente, como "Castor Oil", é singular na natureza, possuindo propriedades químicas e físicas únicas, como densidade, viscosidade, solubilidade em álcool e lubricidade, superiores a todos os outros óleos vegetais. O mesmo possui uma enorme versatilidade química dentro do ramo industrial, podendo ser utilizado em rotas de síntese para uma grande variedade de produtos. A partir deste óleo, pode-se obter o diesel vegetal, biodiesel, que substitui o óleo diesel derivado do petróleo no uso como combustível. Ademais, este óleo possui em sua composição o ácido ricinoléico (90%), que apresenta a peculiaridade de possuir uma hidroxila no carbono 12, além de ter uma dupla ligação estrategicamente posicionada no carbono 9 de sua cadeia de 18 carbonos, conforme ilustrado na Figura 14. A composição do óleo de mamona pode ser vista na Tabela 2 (AZEVEDO e LIMA, 2001).



**Figura 14: Estrutura molecular do Óleo de Mamona (*Ricinus communis*).**

**Tabela 2: Composição em ácidos graxos do óleo de mamona.**

Ácidos Graxos	%
Ácido ricinoléico	89,5
Ácido linoléico	4,2
Ácido oléico	3,0
Ácido esteárico	1,0
Ácido palmítico	1,0
Ácido dihidroxiesteárico	0,7
Ácido licosanóico	0,3
Ácido linolênico	0,3

Fonte: AZEVEDO e LIMA (2001)

A Tabela 3 apresenta as principais características físico-químicas deste óleo.

**Tabela 3: Características Físico-Químicas Típicas do Óleo de Mamona.**

<b>Propriedade</b>	<b>Valor</b>
<b>Índice de Iodo</b>	<b>84-88</b>
<b>Viscosidade a 100°C</b>	<b>20,00 cSt</b>
<b>IV (Índice de Viscosidade)</b>	<b>90</b>
<b>Ponto de Fusão</b>	<b>-23°C</b>
<b>Teor de Ácido Ricinoléico (massa)</b>	<b>90%</b>
<b>Teor de Ácido Linoléico (massa)</b>	<b>4,2%</b>
<b>Estabilidade oxidativa pela bomba rotatória</b>	<b>25 min.</b>

Fonte: AZEVEDO e LIMA (2001)

Considerando-se a utilização do óleo de mamona na formulação de óleos lubrificantes, vale ressaltar que este possui um maior poder de solubilização de aditivos utilizados nas formulações dos lubrificantes acabados, quando comparado aos óleos minerais. O óleo de mamona apresenta ainda uma alta viscosidade e um baixo ponto de fluidez, entretanto o seu índice de viscosidade (IV) é inferior ao de outros óleos vegetais.

O óleo de mamona vem sendo usado para a fabricação de mais de 800 produtos, com destaque para vidros à prova de bala, lentes de contato, batons, sabões metálicos, lubrificantes especiais para motores e reatores de elevada rotação, plásticos de elevada resistência, poliuretanas, entre outros. Além disso, suas características únicas conferem lubricidade, da mesma forma que o enxofre, ao diesel mineral, sendo assim um óleo especial e com mercado garantido no mundo moderno.

A Índia, a China e o Brasil são, nesta ordem, os principais produtores mundiais da mamona e do seu óleo. A Alemanha e a Tailândia aparecem como os maiores importadores mundiais das sementes de mamona (94%), enquanto os EUA aparecem como os principais importadores do óleo destas sementes (AZEVEDO e LIMA, 2001).

No Brasil, a Bahia responde por 85% da produção de mamona, sendo este estado, juntamente com Minas Gerais, os locais onde estão instaladas as principais empresas que fazem a extração de óleo. O Brasil conta com uma capacidade instalada de 160 mil toneladas/ano de bagas de mamona. Como o consumo interno de óleo de mamona é relativamente pequeno, entre 10 e 15 mil toneladas/ano, existe um excedente exportável da ordem de 45 a 50 mil toneladas (AZEVEDO e LIMA, 2001).



## 4.2 A Soja

A soja hoje cultivada é muito diferente dos seus ancestrais, que eram plantas rasteiras que se desenvolviam na costa leste da Ásia, principalmente ao longo do rio Yangtse, na China. Sua evolução começou com o aparecimento de plantas oriundas de cruzamentos naturais entre duas espécies de soja selvagem que foram domesticadas e melhoradas por cientistas da antiga China (<http://www.cnpso.embrapa.br> - acesso em 29/08/2012).

As primeiras citações do grão aparecem no período entre 2883 e 2838 AC, quando a soja era considerada um grão sagrado, ao lado do arroz, do trigo, da cevada e do milho. Um dos primeiros registros do grão está no livro "Pen Ts'ao Kong Mu", que descrevia as plantas da China ao Imperador Sheng-Nung. Para alguns autores, as referências à soja são ainda mais antigas, remetendo ao "Livro de Odes", publicado em chinês arcaico.

Até aproximadamente 1894, término da guerra entre a China e o Japão, a produção de soja ficou restrita à China. Apesar de ser conhecida e consumida pela civilização oriental por milhares de anos, só foi introduzida na Europa no final do século XV, como curiosidade, nos jardins botânicos da Inglaterra, França e Alemanha. Na segunda década do século XX, o teor de óleo e proteína do grão começa a despertar o interesse das indústrias mundiais. No entanto, as tentativas de introdução comercial do cultivo do grão na Rússia, Inglaterra e Alemanha fracassaram, provavelmente, devido às condições climáticas desfavoráveis (<http://www.cnpso.embrapa.br> - acesso em 29/08/2012).

A soja é um grão muito versátil que dá origem a produtos e subprodutos muito usados pela agroindústria, indústria química e de alimentos. Na alimentação humana, a soja entra na composição de vários produtos embutidos, em chocolates, temperos para saladas, entre outros produtos.

A proteína de soja é a base de ingredientes de padaria, massas, produtos de carne, cereais, misturas preparadas, bebidas, alimentação para bebês e alimentos dietéticos. A soja também é muito usada pela indústria de adesivos e nutrientes, alimentação animal, adubos, formulador de espumas, fabricação de fibra, revestimento, papel, emulsão de água para tintas.

Seu uso mais conhecido, no entanto, é como óleo refinado, obtido a partir do óleo bruto. Nesse processo, também é produzida a lecitina, um agente emulsificante (substância que faz a ligação entre a fase aquosa e oleosa dos produtos), muito usada na fabricação de salsichas, maioneses, achocolatados, entre outros produtos.

Recentemente, a soja vem crescendo também como fonte alternativa de

combustível. Desde 2005, o biodiesel de soja vem sendo testado por instituições de pesquisa, como a Embrapa, além de estar sendo testado em diferentes cidades brasileiras (([http:// http://www.cnpso.embrapa.br](http://http://www.cnpso.embrapa.br) - acesso em 29/08/2012).

Os maiores produtores de soja do mundo, segundo dados de 2010 ([http:// http://www.soystats.com](http://http://www.soystats.com) - acesso em 29/08/2012), são os Estados Unidos (35%), seguidos do Brasil (27%), Argentina (19%), República Popular da China (6%) e Índia (4%). A produção mundial de soja em 2010 foi de 258,4 milhões de toneladas.

O óleo de soja é rico nos ácidos oléico e linoléico, conforme pode ser visto na Tabela 4. O elevado teor de ácido linoléico confere uma menor estabilidade oxidativa do óleo de soja quando comparado ao óleo de mamona.

**Tabela 4: Composição em ácidos graxos do óleo de soja.**

Ácidos Graxos	%
Ácido palmítico	8,0
Ácido esteárico	4,0
Ácido oléico	28,0
Ácido linoléico	53,0
Ácido linolênico	6,0

Fonte: WANDERLEY, 1999.

### 4.3 O Pinhão Manso

Acredita-se que o pinhão manso (*Jatropha curcas*) proceda da América do Sul, possivelmente originária do Brasil, tendo sido introduzido por navegadores portugueses, em fins do século XVIII, nas ilhas de Cabo Verde e em Guiné, de onde mais tarde foi disseminado pelo continente africano. No começo do século XIX era usado, em alguns países, para aumentar a ação purgativa do óleo de rícino, com o qual era misturado. Depois foi abandonado, pois sua ação purgativa é branda. As sementes são comestíveis na opinião de alguns autores do passado, desde que se tenha a precaução de retirar o embrião (<http://www.pinhaomanso.com.br> – acesso em 16/03/2012).

No passado, o pinhão manso era bastante plantado nas divisas de sítios. Era usado também para fazer sabão, triturando a semente. Usava-se também como remédio para prisão de ventre.

O nome *Jatropha*, deriva do grego *iatrós* (doutor) e *trophé* (comida), implicando nas suas propriedades medicinais. *Curcas* é o nome comum para o pinhão manso em Malabar, Índia.

Nos países importadores, basicamente Portugal e França, as sementes de pinhão manso sofrem o mesmo tratamento industrial que as bagas de mamona, isto é, cozimento prévio e esmagamento subsequente em prensas tipo “expeller”, para extração do óleo, que em seguida é filtrado, centrifugado e clarificado, resultando em um produto mais livre de impurezas. A torta, que contém ainda aproximadamente 8% de óleo, é re-extraída com solventes orgânicos, geralmente hexano, sendo o farelo residual ensacado para aproveitamento como fertilizante natural, em virtude dos teores elevados de nitrogênio, fósforo e potássio. Até antes da II Guerra Mundial (1939), o principal emprego do óleo de pinhão manso era na saboaria e na fabricação de estearina, mas, devido às necessidades militares, outras possíveis utilizações começaram a ser estudadas. Não pode, contudo, ser utilizado como lubrificante, devido a sua baixa viscosidade e grande porcentagem de ácido linoléico, o que pode provocar rápida resinificação. No entanto, pesquisas levaram à conclusão de que esse óleo pode também ser utilizado como biodiesel sem qualquer tratamento prévio especial e com quase igual potência às conseguidas com o diesel. Apesar de também ser utilizado na indústria de fiação de lã, de tinta para escrever, tinta de impressão e tintas para pintura, além de ser utilizado como óleo de lustrar e quando cozido, misturado com óxido de ferro, utilizado para envernizar móveis, seu maior emprego ainda é nas saboarias (<http://www.pinhaomanso.com.br> – acesso em 16/03/2012).

O óleo de pinhão manso é rico nos ácidos oléico e linoléico, conforme pode ser visto na Tabela 5. Esta característica, teoricamente, confere uma menor estabilidade oxidativa do mesmo quando comparado ao óleo de mamona.

**Tabela 5: Composição em ácidos graxos do óleo de pinhão manso.**

Ácidos Graxos	%
Ácido palmítico	14,3
Ácido palmitoléico	1,3
Ácido esteárico	5,1
Ácido oléico	41,1
Ácido linoléico	38,1
Ácido linolênico	0,2

Fonte: <http://www.pinhaomanso.com.br> – acesso em 16/03/2012.

## 5. METODOLOGIA

As reações foram realizadas no laboratório de Biotecnologia Microbiana (LabIM) do Instituto de Química da UFRJ e os ensaios foram realizados nos laboratórios da Gerência de Lubrificantes e Produtos Especiais (LPE) do CENPES, Petrobras.

### 5.1 Materiais

Com base na literatura e em função de características estruturais e propriedades físico-químicas, os reagentes utilizados foram os biodiesel de soja e de pinhão manso, além do ricinoleato de metila com 88% de pureza, gentilmente cedidos pela gerência de Hidrorrefino e Processos Especiais (HPE) do CENPES – Petrobras, o álcool trimetilolpropano (TMP) (Sigma-Aldrich) com 98% de pureza, óleo de mamona grau farmacêutico (Walmart), metóxido de sódio (Fisher Scientific), Triacetina, acetato de metila, sílica gel H e anidrido acético (Sigma-Aldrich).

Também com base na literatura e nas características estruturais, utilizaram-se, como catalisadores enzimáticos, as seguintes lipases: *Rhizomucor miehei* (Lipozyme RM IM – Novozymes), *Candida antarctica* (Novozym 435 – Novozymes) e *Candida rugosa* (Lipomod 34P – Biocatalysts). Todas estas enzimas são comerciais, sendo a Novozym imobilizada na resina aniônica macroporosa Duolite A568 e a Lipozyme imobilizada em resina de troca aniônica.

As propriedades físico-químicas das lipases e suas respectivas atividades hidrolíticas, fornecidas pelos fabricantes, estão nas Tabelas 6, 7 e 8.

**Tabela 6: Propriedades típicas da enzima Lipomod 34P (Biocatalysts)**

Propriedades	Valores
Atividade	115 000 como Lipase U/g (típica) 65 000 como Esterase U/g (aproxim.)
Fonte Biológica	<i>Candida rugosa</i>
Forma	Pó branco
pH de operação	5 - 8
Temperatura de operação	40 – 55°C

**Tabela 7: Propriedades típicas da enzima Novozym 435 (Novozymes)**

Propriedades	Valores
Atividade	10 000 como Lipase U/g (típica)
Fonte Biológica	<i>Candida antarctica</i>
Forma	Granulado imobilizado
pH de operação	-
Temperatura de operação	-

**Tabela 8: Propriedades típicas da enzima Lipozyme RM IM (Novozymes)**

Propriedades	Valores
Atividade	150 como Esterase U/g (aproxim.)
Fonte Biológica	<i>Rhizomucor miehei</i>
Forma	Granulado Imobilizado
pH de operação	-
Temperatura de operação	-

## 5.2 Aparelhagem e Condições Reacionais das Reações Enzimáticas

As reações foram realizadas em reatores de vidro (50 mL), termostatizados, com agitação magnética (700 rpm), conforme ilustrado na Figura 15. Quando necessário, para se obter uma conversão maior, todo o sistema foi colocado sob pressão reduzida de 0,01 bar, proporcionado pela bomba de diafragma MZ 2C da Vacuubrand. Algumas reações foram realizadas à pressão atmosférica. O metanol formado foi recolhido com um auxílio de um “trap”.



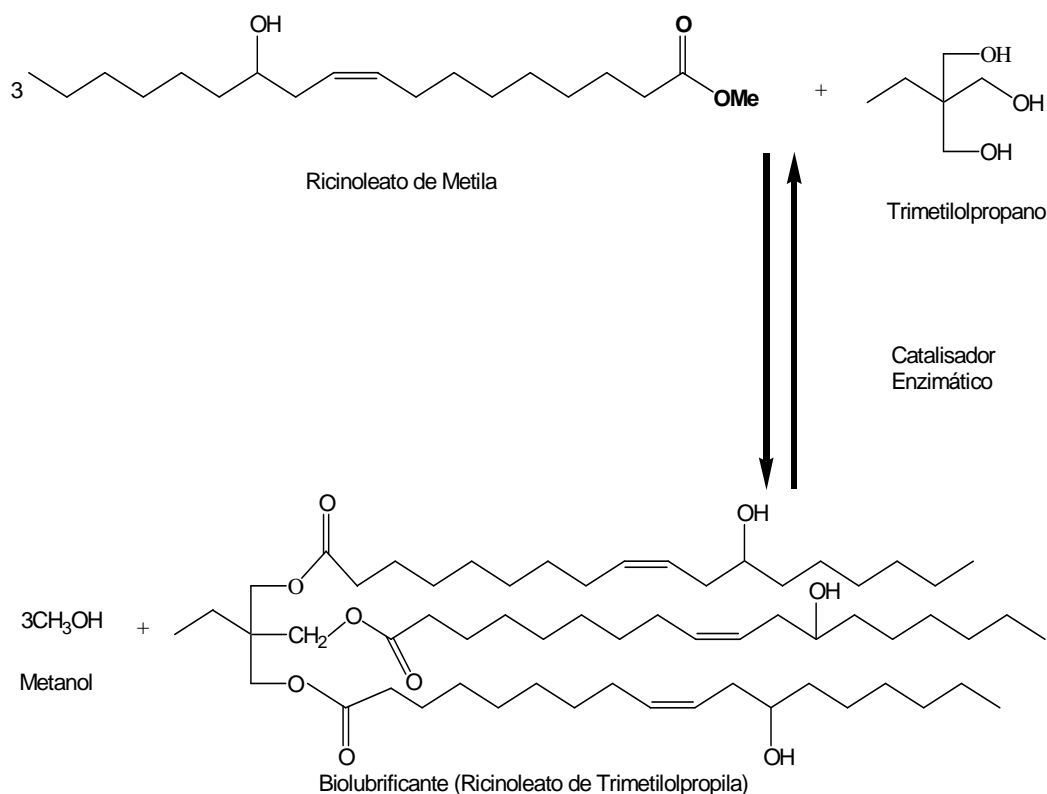
**Figura 15: Aparato utilizado nas reações de transesterificação.**

O TMP (11,25 mmol, 1,51g) e a água (1-11% m/m em relação à massa biodiesel + TMP) foram inicialmente adicionados aos reatores. Uma vez que o TMP estivesse solubilizado, adicionou-se o ricinoleato de metila (35,20-52,90 mmol, 11,00-16,50g). Aguardou-se, então, que a temperatura do sistema atingisse o valor desejado, da reação, para então se adicionar a lipase (1-4% m/m em relação à massa biodiesel + TMP). A partir deste momento, a agitação foi iniciada e a bomba de vácuo ligada (quando necessário). A reação foi acompanhada durante cerca de 120 horas, com amostragens a cada 24 horas.

No final da reação, a mistura foi filtrada em papel de filtro, centrifugada (5000 rpm, 20 min) e armazenada em freezer com temperatura inferior a 0°C até a sua utilização.

A conversão do reagente (ricinoleato de metila) em produtos foi calculada com base no desaparecimento do mesmo, acompanhado através de cromatografia líquida (HPLC).

A Figura 16 ilustra a reação de transesterificação do ricinoleato de metila com o TMP, em presença de catalisador enzimático, realizada neste trabalho.



**Figura 16: Reação de transesterificação do ricinoleato de metila com TMP em presença de catalisador enzimático.**

### 5.3 Determinação das Atividades Enzimáticas

#### 5.3.1 Atividade de hidrólise

A determinação da atividade lipásica foi realizada utilizando-se como substrato o óleo de oliva (5% m/v), emulsionado por 3 minutos com goma arábica (10% m/v) em tampão fosfato de sódio (100 mM, pH 7,0). A enzima (100 mg) foi adicionada a 19 mL de emulsão e incubada por 10 minutos a 35° C (em pH 7,0) em banho com agitação a 200 rpm. A reação foi interrompida pela adição de 20 mL uma solução de acetona-etanol (1:1 v/v), que também promove a extração dos ácidos graxos liberados. Os ácidos graxos foram titulados com solução 0,04M de NaOH, em titulador automático, até um valor de pH final de 11,0. Os brancos reacionais foram obtidos adicionando-se o preparado enzimático após a solução acetona-etanol, sem a presença do óleo de oliva.

A atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima que produz 1 μmol de ácido graxo por minuto, nas condições do ensaio. O cálculo da atividade enzimática foi feito pela equação 9 (FREIRE *et al*, 1997):

$$\text{Atividade (U/mL)} = \frac{(v_a - v_b) \cdot M \cdot 1000}{t \cdot v \cdot m} \quad (\text{eq. 9})$$

onde;  $v_a$  = volume NaOH gasto de amostra (mL)  
 $v_b$  = volume de NaOH gasto no branco (mL)  
 $M$  = molaridade do NaOH (mmol/mL)  
 $t$  = tempo de reação (min)  
 $v$  = volume da amostra (mL)  
 $m$  = massa da enzima (g)

### 5.3.2 Atividade de esterificação

A atividade enzimática de esterificação foi quantificada pelo consumo de ácido oléico na reação de esterificação com etanol e ácido oléico na razão molar de ácido: álcool de 1:1. A reação foi conduzida à temperatura de 40°C, utilizando-se 100mg de enzima sob agitação constante. A reação foi iniciada pela adição da enzima ao meio reacional, em um reator aberto, provido de agitação magnética e conectado a um banho termostático. Alíquotas de 150 µL foram retiradas do meio reacional em triplicata, no tempo zero e em tempos de reação determinados. A cada amostra foram adicionados 20 mL de uma solução de acetona-etanol (1:1) (v/v) para extração do ácido oléico. Os brancos reacionais foram obtidos adicionando-se o preparado enzimático após a solução acetona-etanol, sem a presença do ácido oléico. A quantidade de ácido consumido foi determinado por titulação com NaOH 0,02M. Uma unidade de atividade enzimática de esterificação foi definida como a quantidade de enzima que esterifica 1µmol de ácido graxo por minuto, nas condições do ensaio, de modo que o cálculo da atividade enzimática foi feito pela equação 10 (LANGONE, 1998):

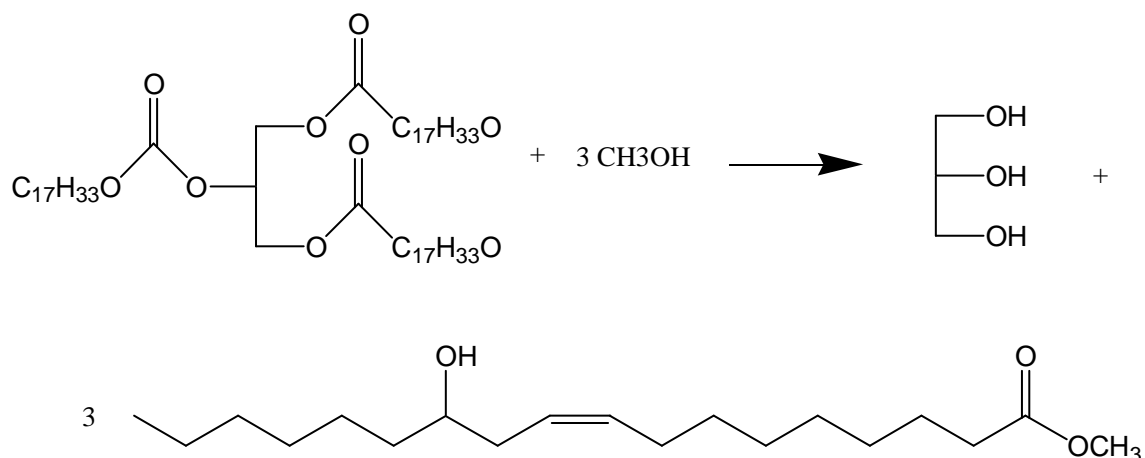
$$\text{Atividade } (\mu\text{mol/ min. } m_{\text{enzima}}) = \frac{(v_{br} - v_a) \cdot M \cdot 1000 \cdot v_f}{t \cdot m \cdot v_e} \quad (\text{eq. 10})$$

onde;  $v_{br}$  = volume de NaOH gasto no branco (mL)  
 $v_a$  = volume de NaOH gasto na amostra (mL)  
 $M$  = molaridade (mmol/mL)  
 $v_f$  = volume final (mL)  
 $V_e$  = volume da alíquota do meio reacional retirada para titulação (mL)  
 $m$  = massa de enzima (g)  
 $t$  = tempo de reação (min)



#### 5.4 Síntese e Purificação do Éster Ricinoleato de Metila (MeR) (empregado na etapa de estudo da estabilidade oxidativa)

O óleo de mamona (80g) foi misturado a um excesso de metanol (342,9 moles), com o objetivo de se evitar a formação do dímero do ricinoleato de metila (YAO *et al*, 2010). Utilizou-se como catalisador o metóxido de sódio 0,5M (0,5% m/m). O metanol foi submetido a refluxo por 10 minutos para liberar o dióxido de carbono. A reação foi conduzida por 18 horas à temperatura ambiente para evitar a formação do “estolide” (dímero). Ao final da reação, o produto foi extraído com hexano e uma solução aquosa de ácido acético 2%, apresentando uma massa de 70-75g após a remoção do solvente. A Figura 17 ilustra a reação descrita.

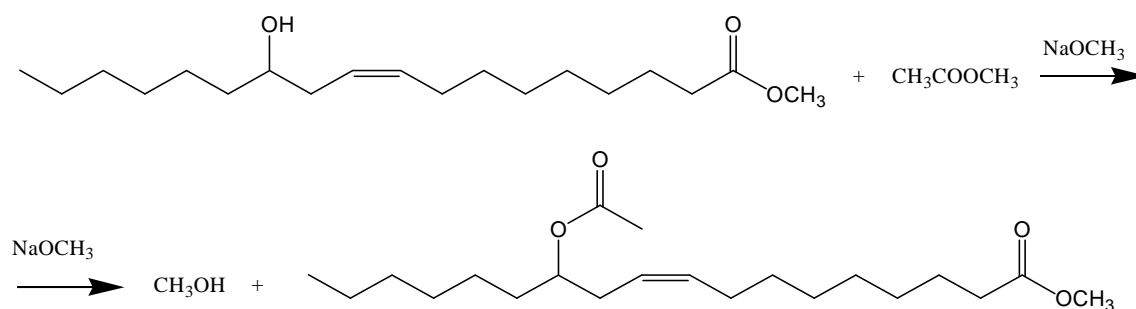


**Figura 17: Reação de transesterificação do óleo de mamona com metanol.**

O ricinoleato de metila foi separado dos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) não-hidroxilados por meio de método de fracionamento contracorrente (YAO *et al*, 2010). O ricinoleato de metila bruto (75g) foi submetido à agitação com 500mL de hexano e 250mL de uma solução metanol/água/ácido acético (90:10:0,5% v/v.) em um funil de separação. Após a separação das fases, a fase rica em metanol foi transferida sequencialmente através de mais dois funis de separação, cada um contendo 500mL de hexano, sendo a fase final de metanol coletada como amostra número 1. A fase hexano remanescente no primeiro funil foi lavada com 250mL de uma nova solução metanol/água/ácido acético. Este procedimento foi repetido até serem coletadas 12 amostras das fases metanol. Para analisar estas amostras no cromatógrafo a gás (GC), foi estabelecido o seguinte procedimento para preparação das mesmas: 7mL de água destilada foram misturados a 2mL de hexano e a 2mL da amostra. Este procedimento foi necessário para proteger a coluna do GC (apolar) do contato com o metanol (polar).

## 5.5 Síntese e Purificação do Éster 12-Acetilricinoleato de metila (12Ac)

O 12-acetilricinoleato de metila foi preparado a partir do ricinoleato de metila anteriormente sintetizado. 60g (0,19 mols) de ricinoleato de metila foram misturados a 800g (10,81 mols) de acetato de metila, um excesso de 10,62 mols para aumentar o rendimento da reação. Metóxido de sódio em pó foi utilizado como catalisador a 2% em massa do acetato de metila. A reação foi conduzida por 3 horas em temperatura ambiente, com alíquotas sendo analisadas em GC a cada hora para se determinar o final da mesma. A conversão final do ricinoleato de metila foi de 90%. O produto foi lavado com uma solução aquosa de ácido acético (2%) e extraído com hexano. Após secagem com sulfato de sódio e evaporação, foram obtidos 60,8g. A Figura 18 ilustra a reação descrita.



**Figura 18: Reação de acetilação do ricinoleato de metila com acetato de metila.**

O 12-acetilricinoleato de metila foi purificado por meio de um método de extração contracorrente similar ao utilizado anteriormente na purificação do ricinoleato de metila. O objetivo desta purificação foi o de separar o ricinoleato de metila residual (mais polar) do 12-acetilricinoleato de metila (menos polar). O 12Ac bruto (50g) foi dissolvido em 400mL de hexano em um funil de separação. A amostra foi extraída oito vezes com 200mL de uma solução aquosa de metanol (90% v/v), com a adição de uma nova solução de metanol a cada vez. A fase hexano foi seca com sulfato de sódio e evaporada.

## 5.6 Síntese e Purificação do Acetil-TMP (Trimetilolpropano)

O composto acetil-TMP foi preparado a partir da reação entre TMP e anidrido acético. Foram misturados 21,4g (0,16 mols) de TMP e 100g (0,98 mols) de anidrido acético. O excesso de 0,5 mols de anidrido acético foi necessário para aumentar o rendimento da reação. A reação foi conduzida em refluxo por duas horas. Em seguida, o produto foi lavado cinco vezes com água em ebulição para remoção do ácido acético

formado e do excesso de anidrido, e seco com sulfato de sódio anidro. A conversão após purificação foi de 12,9%. A Figura 19 ilustra a reação descrita.

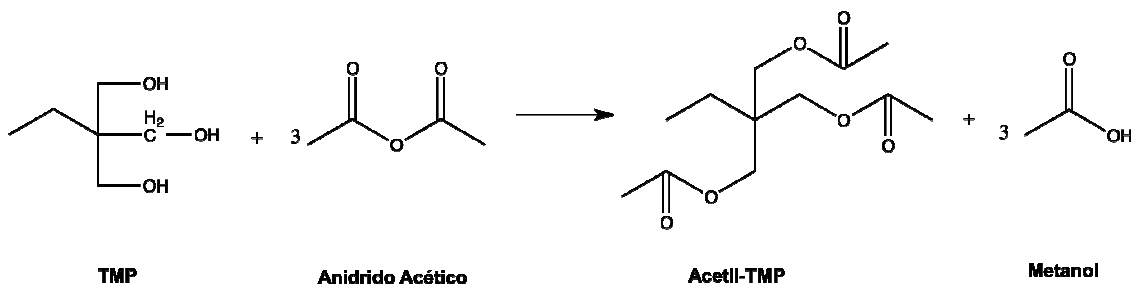


Figura 19: Reação de síntese do acetil-TMP.

## 5.7 Metodologia Analítica

### 5.7.1 Viscosidade cinemática - ASTM D 445

Para a realização do ensaio de viscosidade, colocou-se um volume fixo de amostra em um tubo viscosimétrico calibrado (Cannon Fenske), e este em um banho com temperatura especificada e rigorosamente controlada ( $\pm 0,01^\circ\text{C}$ ), conforme ilustrado na Figura 20. Em seguida, determinou-se o tempo para que o volume da amostra escoasse sob gravidade através do capilar do viscosímetro. A viscosidade cinemática foi obtida pelo produto do tempo de escoamento medido pela constante de calibração do viscosímetro.



Figura 20: Equipamentos para medição da viscosidade cinemática.

### 5.7.2 Índice de viscosidade – ASTM D 2270

O Índice de viscosidade (IV) é um número adimensional utilizado para caracterizar a variação da viscosidade cinemática de um produto derivado do petróleo com a temperatura. Um elevado índice de viscosidade significa uma pequena diminuição da viscosidade de um produto com o aumento da temperatura. Normalmente, o valor do índice de viscosidade é determinado através de cálculos que levam em consideração as viscosidades do produto a 40°C e a 100°C. Estes cálculos estão descritos na norma ASTM D 2270. Em resumo, existem dois procedimentos: A, para valores de IV até e inclusive 100, e B, para valores maiores que 100. Ambos os procedimentos se baseiam na medição prévia das viscosidades a 40°C e a 100°C da amostra.

Pelo procedimento A, calcula-se o IV pela equação 11:

$$IV = [(L-U)/(L-H)] \times 100 \quad (\text{eq. 11})$$

onde: L e H são parâmetros que podem ser extraídos de uma tabela, dependendo do valor da viscosidade a 100°C da amostra, ou podem ser calculados (cSt); e U é a viscosidade cinemática a 40°C da amostra (cSt).

Pelo procedimento B, calcula-se o IV pelas equações 12 e 13:

$$IV = [((\text{antilog } N)-1)/0,00715] + 100 \quad (\text{eq. 12})$$

$$N = (\log H - \log U)/\log L \quad (\text{eq. 13})$$

onde: L e H são parâmetros que podem ser extraídos de uma tabela, dependendo do valor da viscosidade a 100°C da amostra, ou podem ser calculados (cSt); e U é a viscosidade cinemática a 40°C da amostra (cSt).

Neste trabalho, foi utilizado o programa “CALTUDO”, desenvolvido em VisualBasic e otimizado em 2004 pelo autor desta tese, o qual fornece o IV de um lubrificante a partir das suas viscosidades a 40 e 100°C.

### 5.7.3 Ponto de fluidez – ASTM D 97

Este ensaio foi por muito tempo o único utilizado para avaliar o comportamento dos óleos lubrificantes quando submetidos a baixas temperaturas. Atualmente existem outros ensaios que reproduzem mais fielmente o comportamento do óleo lubrificante no interior do equipamento, como, por exemplo, em motores automotivos. Após aquecimento preliminar, a amostra foi resfriada a uma velocidade especificada e

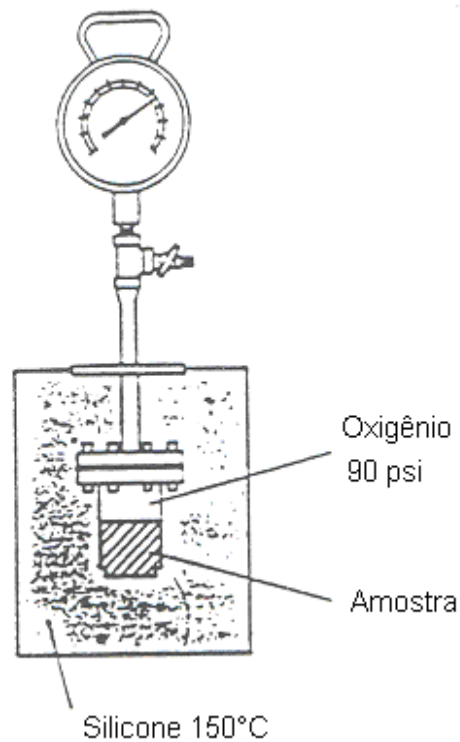
observada em intervalos de 3°C para avaliar as características do escoamento (Figura 21). A menor temperatura na qual se observa movimento no óleo foi reportada como o Ponto de Fluidez.



**Figura 21: Equipamento para medição do ponto de fluidez.**

#### **5.7.4 Estabilidade oxidativa pela bomba rotatória (RPVOT) – ASTM D 2272**

Neste ensaio, um recipiente de aço, contendo a amostra de óleo e um catalisador metálico padronizado (Cobre), foi pressurizado com oxigênio (90psi). Em seguida, o recipiente foi mantido em um banho de silicone a 150°C. O tempo necessário para o consumo de oxigênio equivalente a uma redução na pressão de 25psi é medido. Quanto maior este tempo, mais resistente à oxidação é o óleo (Figura 22).



**Figura 22: Esquema do Equipamento Bomba Rotatória.**

### 5.7.5 Análise de termogravimetria (TGA)

Para determinação da estabilidade térmica dos compostos com e sem hidrogênio  $\beta$  (triacetina e acetil-TMP) foi utilizada a análise de TGA.

As condições das análises de TGA foram as seguintes:

- Instrumento: TGA Q50 V20.10 Build 36 (TA Instruments)
- Método:
  - 1: Rampa 20,00°C/min até 100,00°C
  - 2: Rampa 5,00°C/min até 600,00°C
- Panela: Alumina
- Gás 1: Nitrogênio
- Gás 2: Ar
- Balanço Gás: Nitrogênio 40,0mL/min
- Balanço amostra gás: ar 60,0mL/min
- "AirCoolTime": 10,0 min

Foi utilizado para purga e análise um balanço entre nitrogênio e ar.

### 5.7.6 Cromatografia líquida de alta performance (HPLC)

As análises de cromatografia líquida foram realizadas no equipamento Waters 2695, nas seguintes condições:

Bomba e Injetor: Waters 2695 – Alliance Separations Module

Detetor: Evaporation Light Scattering Detector – ELSD 2000ES – Alltech

Condições de detector:

Temperatura de tubo: 40°C

Fluxo de N<sub>2</sub>: 1,6 L/min

Ganho: 1

Tempo de corrida: 45 minutos

Sistema de aquisição de dados: Empower Software Waters

Fase Estacionária: Três colunas Waters Ultrastyrigel, 300 x 7,8 mm, 5 µm, sendo duas de 500 Å e outra de 100 Å.

Fluxo: 0,6 mL/min

Volume de injeção: 20 µL

Fase Móvel: tetrahidrofurano (THF) grau HPLC (Tedia, sem estabilizante) recém-distilado, filtrado em membrana Millipore de PTFE (0,45µm) e degasado com ultrassom e vácuo por 5 min (isocrático)

Soluções em torno de 1500 mg/L de amostra foram preparadas em THF, filtradas em Millex de 15 mm (Millipore; membrana de PTFE de 0,25 µm de diâmetro de poro) e injetadas em seguida. Os cromatogramas obtidos foram integrados.

Calibração: padrões de poliestireno.

As amostras foram diluídas em 90% hexano / 10% THF e filtradas por membrana de 0,45 µm.

Volume de injeção: 20,0 µL

Tempo de corrida: 30 min.

Nestas condições, o tempo de retenção do ricinoleato de metila é de 30 minutos.

O cálculo do percentual de conversão do ricinoleato de metila foi realizado com base nos cromatogramas obtidos no citado equipamento. Após a integração dos picos, foram calculadas as áreas correspondentes a cada pico (componente). Foi atribuído o valor de 100% para a soma das áreas, e à área correspondente ao ricinoleato foi atribuído o seu percentual. A equação 14 abaixo descreve o cálculo da conversão:

$$\% X = 100 - \frac{A_r}{A_t} \times 100 \quad (\text{eq. 14})$$

onde: A<sub>r</sub> = Área do pico referente ao ricinoleato de metila (mm<sup>2</sup>);

A<sub>t</sub> = Área total de todos os picos referentes a todos os compostos presentes no produto final (mm<sup>2</sup>).

Desta forma, acompanhando a redução da área do ricinoleato de metila nas alíquotas retiradas a cada 24 horas da reação, foi possível calcular a sua conversão.

Não foi utilizada uma curva de calibração em função da não existência no mercado de um padrão do produto obtido.

### **5.7.7 Cromatografia líquida de camada fina (TLC)**

Para acompanhamento qualitativo das reações enzimáticas foi utilizada cromatografia TLC, onde foram utilizadas placas de sílica gel com a seguinte proporção de solventes de eluição: hexano/éter etílico/ácido acético (60:40:1).

As placas foram TLC Sílica Gel 60 F254 (Merck). A solução de revelação foi sulfato de cobre hepta hidratado.

Já para o acompanhamento dos produtos obtidos na oxidação de superfície as condições foram: hexano:éter etílico:ácido acético (70:30:1 v/v). As placas foram reveladas com uma solução 2% de 2',7' di-clorofluoresceína em etanol e observadas com luz UV.

### **5.7.8 Cromatografia gasosa (GC)**

As análises de GC, necessárias para os acompanhamentos de sínteses e purificações, foram realizadas em um cromatógrafo a gás HP 5890 Series II (Hewlett-Packard, PA) equipado com uma coluna SPB-1 fused silica (30m x 0,25mm x 0,25µm) (Supelco, Bellefonte, PA). A vazão do gás de arraste (hélio) foi de 32,3mL/min, e a razão de "split" foi 7,00. As temperaturas do injetor e do detector de ionização de chama foram ambas 300°C. A temperatura do forno foi programada para variar de 140 a 300°C, a uma taxa de 10°C/min, sendo mantida a 300°C por 10 minutos.

### **5.7.9 Ressonância magnética nuclear (RMN)**

A estrutura e a pureza do composto sintetizado Acetil-TMP em CDCl<sub>3</sub> foram determinadas por meio de RMN <sup>1</sup>H com um equipamento Varian VXR-400 NMR "spectrometer", e comparadas com deslocamentos químicos de compostos presentes em biblioteca de espectros .

## **5.8 Oxidação de Superfície**

As análises de oxidação de superfície, para determinação da estabilidade oxidativa dos biolubrificantes sintetizados, foram realizadas de acordo com o seguinte



procedimento (TEKIN e HAMMOND, 2004): dissolveu-se, em hexano, 1,5g de linoleato ou oleato de metila e 1,5g de ricinoleato ou 12-acetilricinoleato de metila, juntamente com 160mg de palmitato de metila como padrão interno. Em seguida, foram adicionados 12g de sílica gel H. Após 2 minutos de agitação, o hexano foi evaporado. Foi coletado 1g de amostra para análise de índice de peróxido (IP), sem extração. Posteriormente, a sílica gel foi removida da fase ácido acético-clorofórmio por filtração, sendo o filtrado lavado três vezes com água destilada para remoção do ácido acético. A seguir, a fase clorofórmio foi seca com sulfato de sódio anidro e evaporada. A amostra foi então dissolvida em hexano para injeção no cromatógrafo a gás (coluna não polar). O restante das amostras com sílica foram colocadas em uma estufa a 60°C, sendo coletadas amostras de 1g em intervalos regulares, para análises de IP e GC.

## **5.9 Purificação da Sílica Gel**

Com o objetivo de se remover os metais de transição V e Ti, os quais interferem nos mecanismos e nos produtos de oxidação dos compostos avaliados através da oxidação de superfície, foi realizado o seguinte procedimento de purificação da sílica gel H (PORTER *et al*, 1971): agitou-se 100g de sílica gel H por 10 minutos em 200mL de uma mistura de ácido clorídrico concentrado/ácido nítrico concentrado/água (1:1:2 v/v). A mistura foi decantada por duas horas. Após separar a sílica do sobrenadante líquido, a mesma foi transferida para um funil de Buchner e filtrada, sendo lavada com 200mL de água destilada até não apresentar mais acidez (medida com papel indicador universal de pH). Estas etapas foram repetidas mais quatro vezes. A sílica foi então lavada com 60mL de etanol e 40mL de benzeno. Finalmente, a sílica foi seca em uma capela, com o auxílio de uma chapa de aquecimento, a 60°C por 24 horas até que não houvesse mais odor de solventes.

## **5.10 Índice de Peróxido (IP) – AOCS Cd 8-53**

O índice de peróxido das amostras foi analisado de acordo com o método oficial da AOCS (Cd 8-53), o qual se baseia na titulação da amostra com tiosulfato de sódio.

### 5.11 Índice de Estabilidade Oxidativa (OSI) – AOCS Cd 12b-92

Esta metodologia é utilizada na avaliação da estabilidade oxidativa de óleos vegetais. Consiste na medição da condutividade elétrica dos produtos voláteis oriundos da decomposição oxidativa da amostra analisada. A amostra (5g) é colocada em um tubo de vidro, o qual é colocado em um banho de aquecimento a 110°C. Faz-se borbulhar ar através da amostra, com vazão controlada. Os produtos voláteis da oxidação da mesma são direcionados para um segundo tubo de plástico, contendo água deionizada. Um sensor de condutividade acoplado a este segundo tubo mede as variações nesta propriedade. O índice de estabilidade oxidativa (OSI) é definido como o ponto de mudança máxima na taxa de oxidação, ou, matematicamente, como o máximo da segunda derivada da condutividade com o tempo, sendo definido em horas. Foi utilizado um equipamento ADM OSI (Omnion Inc., MA) (Figura 23).

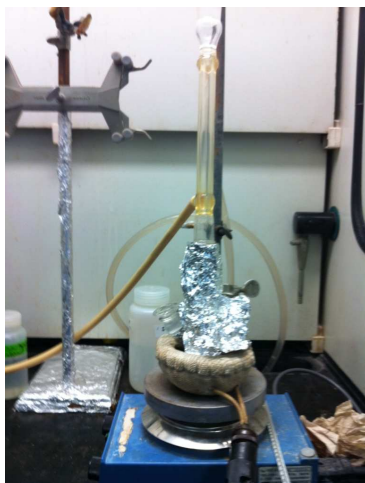


**Figura 23: Equipamento para determinação do OSI.**

### 5.12 Estabilidade Térmica

Para acompanhamento da estabilidade térmica dos compostos triacetina e acetil-TMP, foram adicionados 32g de triacetina ou de acetil-TMP a um balão de vidro de três bocas equipado com um condensador de refluxo, conforme Figura 24. O

material foi então aquecido a 160°C sob agitação. Em intervalos regulares, foram coletadas amostras de 39µL do material decomposto para análises de GC. Foi preparada 25mL de uma solução de palmitato de metila em acetona (25mg/mL), como padrão interno. Foram preparadas soluções (10mL) com os 39µL da amostra decomposta e 1mL da solução de palmitato de metila e acetona. Finalmente, a decomposição da amostra foi acompanhada por GC.



**Figura 24: Aparato para decomposição térmica por refluxo.**

### **5.13 Análise de Tocoferol**

Para se evitar atrasos na determinação dos tempos de oxidação das amostras analisadas por oxidação de superfície, mediu-se o teor de tocoferol nas mesmas em um equipamento HPLC Beckman Gold, equipado com uma coluna Ultrasil NH<sub>2</sub> (250 x 4,5mm) com 3 cm de coluna de guarda (Bfrownlee Labs.). A fase móvel foi 1% 2-propanol em hexano, com uma vazão de 2,0 mL/min. As amostras tiveram um tamanho de 20 µL e o detector de UV foi ajustado a 280 nm. As amostras foram adicionadas sem diluição.

### **5.14 Metodologia de Análise de Dados**

De acordo com DA SILVA, 1999, a técnica de análise de variância (ANOVA) foi aplicada com a identificação das fontes de variabilidade. A análise de variância é indicada para a análise de dados cujos valores dependem de inúmeras causas operando simultaneamente e permite identificar quais dessas causas são relevantes, estabelecendo meios de estimar seus efeitos. A técnica consiste em analisar a

variância dos dados observados, mediante sua decomposição em diversas componentes, cada uma das quais pode ser atribuída a uma fonte específica de variação ou a um fator de variabilidade. A aplicação da técnica ANOVA só é possível a partir de um planejamento experimental adequado.

#### Experimentos Fatoriais – Efeitos Aleatórios

Seja a comparação dos efeitos de “a” tratamentos (ou níveis de um fator) de um experimento completamente aleatorizado, com n réplicas de cada experimento. O modelo estatístico pode ser expresso como:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \quad i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (\text{eq. 15})$$

onde:  $Y_{ij}$ : qualquer valor das observações;

$\mu$ : média global, comum a todos os tratamentos;

$\tau_i$ : efeito do tratamento i;

$\varepsilon_i$ : erro aleatório suposto  $N(0, \sigma^2)$  e independentes;

$\sigma^2 =$  constante, ou seja, as variâncias dos “a” tratamentos não são significativamente diferentes.

Modelos de efeitos aleatórios:

No modelo de efeitos aleatórios os “a” níveis do fator são selecionados aleatoriamente pelo experimentador de uma população de níveis. As conclusões são válidas para a população global de níveis. No modelo estatístico:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}, \quad i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, n \quad (\text{eq. 16})$$

$\tau_i$  e  $\varepsilon_{ij}$  são variáveis independentes.

$\varepsilon_i$ : erro aleatório suposto  $N(0, \sigma^2)$  e independentes;

$\sigma^2 =$  constante, ou seja, as variâncias dos “a” tratamentos não são significativamente diferentes.

$\tau_i$ : fator aleatório suposto  $N(0, \sigma_\tau^2)$ .

$V(\tau_i) = \sigma_\tau^2$ . Assim:  $V(y_{ij}) = \sigma_\tau^2 + \sigma^2$  (são as componentes da variância).

Hipóteses a testar:

$H_0: \sigma_\tau^2 = 0$

$H_1: \sigma_\tau^2 \neq 0$

Procedimento para o teste: partição da variação total nas componentes relativas ao efeito do fator e erro aleatório.

Pode-se escrever:  $SQT = SQE + SQF$  (eq. 17)

onde: SQT = Soma de quadrados total ou variação total.

SQE = Soma dos quadrados devido ao erro

SQF = Soma dos quadrados devido ao fator.

É possível provar que:

$$SQT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n y_{ij}^2 - \frac{y^2_{..}}{N}$$
 (eq. 18)

$$SQF = n \sum_{i=1}^a (\bar{y}_i - \bar{y}_{..})^2 = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^a y_i^2 - \frac{y^2_{..}}{N}$$
 (eq. 19)

$$SQE = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_i)^2 = SQT - SQF$$
 (eq. 20)

Construindo a tabela da ANOVA, tem-se que:

**Tabela 9: Tabela ANOVA.**

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrados Médios	F <sub>0</sub>
Fator	a-1	SQF	QMF = SQF/(a-1)	F <sub>0</sub> = QMF/QME
Erro	N-a	SQE	QME = SQE/(N-a)	
Total	N-1	SQT		

F<sub>0</sub> da tabela ANOVA é a estatística-teste, que tem distribuição F com (a-1) graus de liberdade no numerador e (N-a) graus de liberdade no denominador.

Se F<sub>0</sub> > F<sub>α, (a-1), (N-a)</sub> ou se o P-Level correspondente ao valor de F<sub>0</sub> for menor do que α, a hipótese de homogeneidade deve ser rejeitada para o nível de significância α.

O valor de QME pode ser usado na estimativa de σ<sup>2</sup> (E(QME) = σ<sup>2</sup>) e E(QMF) = σ<sup>2</sup> + nσ<sub>τ</sub><sup>2</sup>, de onde se obtém que : σ<sub>τ</sub><sup>2</sup> = (QMF-QME)/n

Para experimento não-balanceado o valor de n para a estimativa de σ<sub>τ</sub><sup>2</sup> é:

$$n = \frac{1}{a-1} \left( N - \frac{\sum_{i=1}^a n_i^2}{N} \right)$$
 (eq. 21)

O intervalo de  $100(1-\alpha)\%$  de confiança para  $\sigma^2$  pode ser estimado por:

$$(N - a) \frac{QME}{\chi^2_{\alpha/2, N-a}} \leq \sigma^2 \leq (N - a) \frac{QME}{\chi^2_{(1-\alpha/2), N-a}} \quad (\text{eq. 22})$$

O intervalo de  $100(1-\alpha)\%$  de confiança para  $\sigma_\tau^2/V(y_{ij})$  pode ser estimado por:

$$\frac{L}{(1+L)} \leq \frac{\sigma_\tau^2}{V(y_{ij})} \leq \frac{U}{(1+U)} \quad (\text{eq. 23})$$

$$\text{onde: } L = \left( \left( \frac{QMF}{QME} \right) \frac{1}{F_{\alpha/2, a-1, N-a}} - 1 \right) \frac{1}{n} \quad (\text{eq. 24})$$

$$U = \left( \left( \frac{QMF}{QME} \right) \frac{1}{F_{(1-\alpha/2), a-1, N-a}} - 1 \right) \frac{1}{n} \quad (\text{eq. 25})$$

Para que as conclusões sejam relevantes, é necessário testar as suposições básicas do modelo de que o erro  $\varepsilon_{ij}$  seja aleatório com distribuição  $N(0, \sigma^2)$  e independentes. O instrumento básico para o diagnóstico correto é a análise de resíduos.

O gráfico de resíduos no papel de probabilidade normal é utilizado para dar idéia da normalidade dos resíduos. A suposição de normalidade é aceitável se uma linha reta se ajusta aos pontos, sendo que discrepâncias moderadas são aceitas nas extremidades do gráfico. Desvios moderados não são muito sérios no modelo de efeitos fixos.

A independência dos resíduos pode ser verificada através do gráfico dos resíduos na seqüência temporal de coleta dos dados. Os resíduos devem oscilar em torno do zero. Seqüências de resíduos positivos (ou negativos) indicam correlação positiva (ou negativa) dos mesmos. A maneira de garantir a independência dos resíduos é realizar a adequada aleatorização dos experimentos.

A constância da variância pode ser verificada através do gráfico de resíduos contra os níveis do fator, onde a dispersão dos pontos não deve variar muito entre os níveis do fator.

O gráfico dos resíduos contra os valores ajustados também pode ser usado para avaliar a constância da variância. Nesse caso, a dispersão dos pontos não deve variar muito ao longo do gráfico e a distribuição dos pontos não deve revelar nenhum tipo de estrutura, com os pontos oscilando ao acaso em torno de zero (DA SILVA, 1999).

As variâncias estimadas pela análise de variância dos experimentos com fatores aleatórios podem ser usadas no cálculo de repetibilidade e reprodutibilidade.

Os experimentos fatoriais permitem estudar os efeitos de dois ou mais fatores simultaneamente. Um experimento fatorial é um experimento no qual, em cada réplica, são efetuadas todas as combinações dos níveis dos fatores. Dado um fator A com “a” níveis ou tratamentos e um fator B com “b” níveis ou tratamentos, o número de combinações de tratamentos por réplica é “ab”.

Seja a matriz de observações com dois fatores (A com a níveis e B com b níveis) e n réplicas. O modelo estatístico pode ser expresso como:

$$Y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_j + (\tau\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}, \quad i = 1, 2, \dots, a; \quad j = 1, 2, \dots, b; \quad k = 1, 2, \dots, n \quad (\text{eq. 26})$$

onde:  $Y_{ijk}$ : qualquer valor das observações;

$\mu$ : média geral;

$\tau_i$ : efeito do nível i do fator A;

$\beta_j$ : efeito do nível j do fator B;

$(\tau\beta)_{ij}$ : efeito da interação entre  $\tau_i$  e  $\beta_j$ ;

$\varepsilon_{ijk}$ : erro aleatório suposto  $N(0, \sigma^2)$  e independentes;

- Número total de observações:  $N = ABn$ ;

- Experimento completamente aleatorizado;

- Para avaliar a interação, devem-se ter réplicas.

Hipóteses a testar:

a) Igualdade dos efeitos dos níveis do fator A:

$$H_0: \tau_1 = \tau_2 = \tau_3 = \dots = \tau_a = 0$$

$H_1$ : pelo menos um  $\tau_i \neq 0$  para algum i.

b) Igualdade dos efeitos dos níveis do fator B:

$$H_0: \beta_1 = \beta_2 = \beta_3 = \dots = \beta_b = 0$$

$H_1$ : pelo menos um  $\beta_j \neq 0$  para algum j.

c) Existência da interação entre os tratamentos:

$$H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0 \text{ para todo par } (i, j)$$

$$H_1: (\tau\beta)_{ij} \neq 0 \text{ para algum par } (i, j)$$

$$\text{Pode-se escrever: } SQT = SQE + SQA + SQB + SQAB \quad (\text{eq.27})$$

onde: SQT = Soma dos quadrados total ou variação total;

SQE = Soma dos quadrados devido ao erro;

SQA = Soma dos quadrados devido ao fator A;

SQB = Soma dos quadrados devido ao fator B;

SQAB = Soma dos quadrados devido à interação AB.

Assim:

$$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y} \dots)^2 = bn \sum_{i=1}^a (\bar{y}_i - \bar{y} \dots)^2 + an \sum_{j=1}^b (\bar{y}_j - \bar{y} \dots)^2 + n \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{y}_{ij} - \bar{y}_i - \bar{y}_j + \bar{y} \dots)^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y}_{ij})^2 \quad (\text{eq. 28})$$

É possível provar que:

$$C = \frac{y^2 \dots}{abn} \quad (\text{eq. 29})$$

$$SQT = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - C \quad (\text{eq. 30})$$

$$SQA = \frac{1}{bn} \sum_{i=1}^a y_i^2 - C \quad (\text{eq. 31})$$

$$SQB = \frac{1}{an} \sum_{j=1}^b y_j^2 - C \quad (\text{eq. 32})$$

$$SQ \text{ (Subtotal)} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b y_{ij}^2 - C \quad (\text{eq. 33})$$

$$SQAB = SQ \text{ (Subtotal)} - SQA - SQB \quad (\text{eq. 34})$$

$$SQE = SQT - SQA - SQB - SQAB \quad (\text{eq. 35})$$

**Tabela 10: Tabela ANOVA.**

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Soma de Quadrados	Quadrados Médios	F
Fator A	a-1	SQA	QMA = SQA/(a-1)	F <sub>A</sub> = QMA/QME
Fator B	b-1	SQB	QMB = SQB/(b-1)	F <sub>B</sub> = QMB/QME
Interação	(a-1)(b-1)	SQAB	QMAB = SQAB/[(a-1)(b-1)]	F <sub>AB</sub> = QMAB/QME
Erro	ab (n-1)	SQE	QME = SQE/[ab(n-1)]	
Total	abn - 1	SQT		

Os valores esperados dos quadrados médios são:

$$E(QME) = \sigma^2 \quad (\text{eq. 36})$$



$$E(QMA) = \sigma^2 + (bn/(a-1)) \sum_i \tau_i^2 \quad (\text{eq. 37})$$

$$E(QMB) = \sigma^2 + (an/(b-1)) \sum_j \beta_j^2 \quad (\text{eq. 38})$$

$$E(QMAB) = \sigma^2 + (n/(a-1)(b-1)) \sum_i \sum_j (\tau\beta)_{ij}^2 \quad (\text{eq. 39})$$

Os quocientes dos quadrados médios de cada fator e da interação com o quadrado médio do erro refletem as influências dos fatores e da interação respectivamente.

Estatística-teste:

a) Rejeitar  $H_0: \tau_i = 0$  para todo  $i$ , ao nível de significância  $\alpha$ , se:

$$F_A = \frac{QMA}{QME} > F_{\alpha, (a-1), ab(n-1)} \quad (\text{eq. 40})$$

b) Rejeitar  $H_0: \beta_j = 0$  para todo  $j$ , ao nível de significância  $\alpha$ , se:

$$F_B = \frac{QMB}{QME} > F_{\alpha, (b-1), ab(n-1)} \quad (\text{eq. 41})$$

c) Rejeitar  $H_0: (\tau\beta)_{ij} = 0$  para todo par  $(i,j)$ , ao nível de significância  $\alpha$ , se:

$$F_{AB} = \frac{QMAB}{QME} > F_{\alpha, (a-1)(b-1), ab(n-1)} \quad (\text{eq. 42})$$

Dessa forma,  $F_A$  é a estatística-teste para o teste de hipóteses do efeito do fator A,  $F_B$  para o fator B e  $F_{AB}$  para a interação AB. Deve-se realizar a análise de resíduos, conforme discutido anteriormente.

Resolveu-se construir dois planejamentos fatoriais fracionários  $3^{4-1}$ , com repetição, idênticos, a fim de se estudar, em dois tempos de reação (72 e 100 horas), utilizando a enzima Lipomod 34P, as seguintes variáveis com seus respectivos níveis, conforme ilustrado na Tabela 11:

**Tabela 11: Variáveis e respectivos níveis do planejamento fatorial.**

Variável	Nível		
	(-1)	(0)	(+1)
Teor de enzima ( $C_{enzima}$ ), %	1,0	2,5	4,0
Teor de água ( $C_{água}$ ), %	1,0	6,0	11,0
Temperatura, °C	40	45	50
Razão Molar Biodiesel/TMP	3,130	3,915	4,700

As variáveis escolhidas e seus respectivos níveis foram determinados com base nas reações preliminares realizadas, as quais serão descritas no capítulo 6

(Resultados e Discussão). O objetivo deste planejamento foi o de determinar as melhores condições da reação de produção de biolubrificante via catálise enzimática a partir do biodiesel de mamona. A variável de resposta escolhida foi a conversão do biodiesel de mamona.

Foram projetadas 54 reações para cada tempo, distribuídas aleatoriamente no tocante à ordem de execução, conforme ilustrado na Tabela 12.

**Tabela 12: Ordem das reações do planejamento fatorial 3<sup>4-1</sup>.**

Experimento	Réplica	% Enzima	% Água	Temperatura (°C)	Razão Molar (Biod./TMP)
32	2	-1	0	0	0
34	2	-1	1	-1	0
12	1	0	-1	1	-1
28	2	-1	-1	-1	-1
11	1	0	-1	0	0
17	1	0	1	0	1
36	2	-1	1	1	1
16	1	0	1	-1	-1
37	2	0	-1	-1	1
22	1	1	0	-1	-1
3	1	-1	-1	1	0
38	2	0	-1	0	0
13	1	0	0	-1	0
4	1	-1	0	-1	1
31	2	-1	0	-1	1
42	2	0	0	1	1
35	2	-1	1	0	-1
54	2	1	1	1	-1
23	1	1	0	0	1
41	2	0	0	0	-1
52	2	1	1	-1	1
25	1	1	1	-1	1
19	1	1	-1	-1	0
21	1	1	-1	1	1
40	2	0	0	-1	0
44	2	0	1	0	1
27	1	1	1	1	-1
46	2	1	-1	-1	0
49	2	1	0	-1	-1
14	1	0	0	0	-1
6	1	-1	0	1	-1
2	1	-1	-1	0	1
29	2	-1	-1	0	1
8	1	-1	1	0	-1
18	1	0	1	1	0
53	2	1	1	0	0
47	2	1	-1	0	-1
10	1	0	-1	-1	1
48	2	1	-1	1	1
50	2	1	0	0	1
20	1	1	-1	0	-1
30	2	-1	-1	1	0
7	1	-1	1	-1	0
9	1	-1	1	1	1
1	1	-1	-1	-1	-1
24	1	1	0	1	0
33	2	-1	0	1	-1
51	2	1	0	1	0
45	2	0	1	1	0
5	1	-1	0	0	0
43	2	0	1	-1	-1
26	1	1	1	0	0
15	1	0	0	1	1
39	2	0	-1	1	-1

## 6. RESULTADOS e DISCUSSÃO

### 6.1 Seleção da Enzima

As lipases de *Cândida rugosa*, *Cândida antarctica* e de *Rhizomucor miehei* foram previamente selecionadas devido ao fato de as mesmas terem apresentado bons resultados de conversão (em artigos da literatura) em reações de esterificação e de transesterificação com óleos vegetais (LÄMSA, 1995; FREIRE *et al*, 2008; LINKO *et al*, 1998; CASTRO *et al*, 2004). Além disso, as lipases de *Candida rugosa* e *Candida antarctica* (não específicas) apresentaram boa ação com alcoóis superiores, como o trimetilolpropano (HOU e SHIMADA, 2009).

Foram determinadas para cada uma das enzimas as atividades de hidrólise e de esterificação, segundo metodologias descritas em 5.3, conforme pode ser visto na Tabela 13.

**Tabela 13: Atividades das lipases estudadas.**

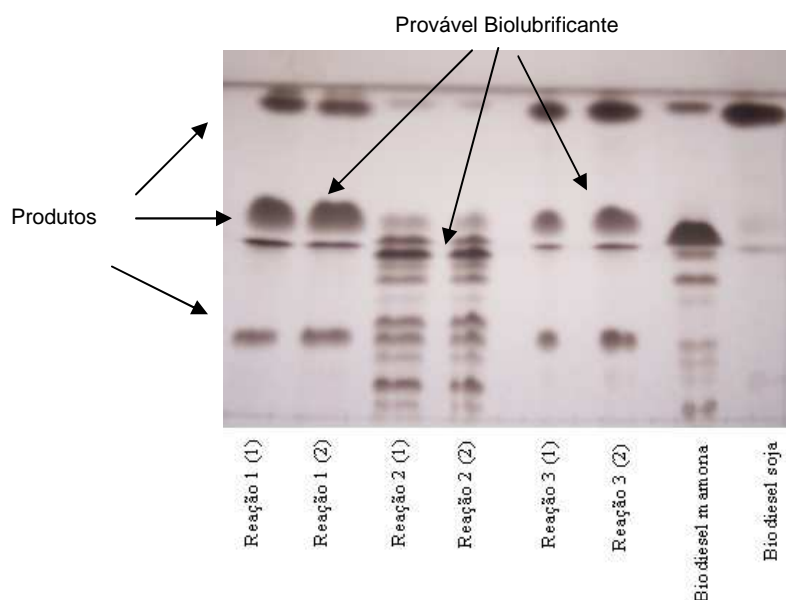
Lipase	Atividade Hidrólise (U/g)	Atividade Esterificação (U/g)
Novozym 435 ( <i>Candida antarctica</i> )	42,6	3.174
Lipomod 34P ( <i>Candida rugosa</i> )	19.000,0	116
Lipozyme RM IM ( <i>Rhizomucor miehei</i> )	42,1	1.345

O objetivo desta determinação foi o de se verificar se as enzimas estavam ativas, antes de serem iniciados os experimentos, pois as atividades catalíticas das enzimas podem ser distintas em função do substrato utilizado. Desta forma, em função dos valores encontrados de atividade terem sido bastante diferentes, os mesmos não puderam servir de fator de decisão sobre qual lipase se deveria empregar, conforme será visto mais adiante em relação às conversões obtidas nas reações de transesterificação com as três lipases.

### 6.2 Reações Preliminares

Inicialmente, procedeu-se a realização de três reações exploratórias, empregando biodiesel metílico de soja (em função da disponibilidade e da facilidade de reação) e etílico de mamona (também em função da disponibilidade) com as

enzimas Lipomod 34P (*Candida rugosa*) e Lipozyme RM IM (*Rhizomucor miehei*). O acompanhamento foi feito por TLC, conforme ilustrado na Figura 25.



**Figura 25: Placa de TLC mostrando os produtos das reações de transesterificação com TMP.**

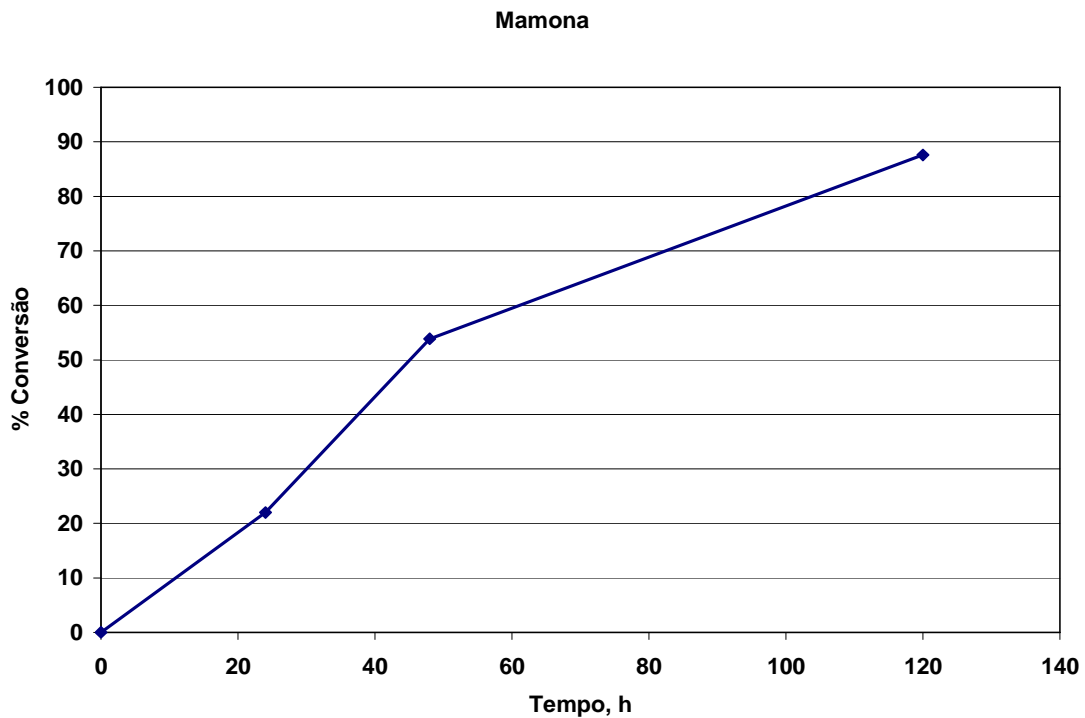
- Obs.:
- Reação 1: Biodiesel metílico de soja e Lipozyme RM IM
  - Reação 2: Biodiesel etílico de mamona e Lipozyme RM IM
  - Reação 3: Biodiesel metílico de soja e Lipomod 34P

Comparando-se o cromatograma obtido nas reações com os cromatogramas dos dois tipos de biodiesel puros, pode-se constatar que ocorreu a formação de produtos, evidenciando a ocorrência da catálise enzimática.

Em função da maior disponibilidade, escolheu-se inicialmente uma das lipases (Lipomod 34P) para ser utilizada nas reações de transesterificação envolvendo TMP e os três tipos de biodiesel: mamona, pinhão manso e soja. O objetivo destas reações foi o de se verificar qual biodiesel forneceria o maior rendimento em termos de biolubrificante produzido e o efeito da presença de vácuo na conversão. Segundo SILVA, 2006, o vácuo é responsável pela remoção do álcool à medida que este se forma, deslocando o equilíbrio da reação em direção à formação de produtos. Estas reações foram conduzidas por 120 horas, com amostragem a cada 24 horas, nas seguintes condições fixas:

- Razão molar Biodiesel/TMP: 4,5:1;
- Temperatura: 42°C;
- Teor de água: 12% m/m;
- Teor de enzima: 0,8% m/m;
- Presença de vácuo (~0,01 bar).

Estas reações foram acompanhadas por HPLC e TLC. Os valores das conversões obtidas e os cromatogramas TLC podem ser vistos nas Figuras 26 a 31.



**Figura 26: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).**



Figura 27: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).

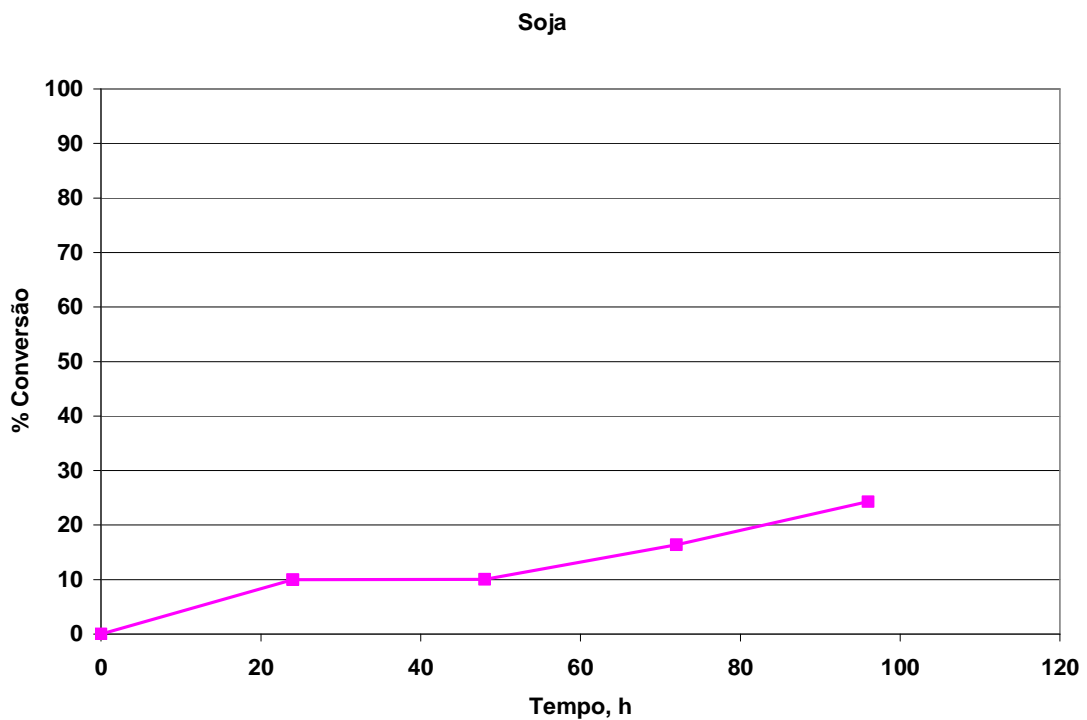


Figura 28: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).



Figura 29: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).

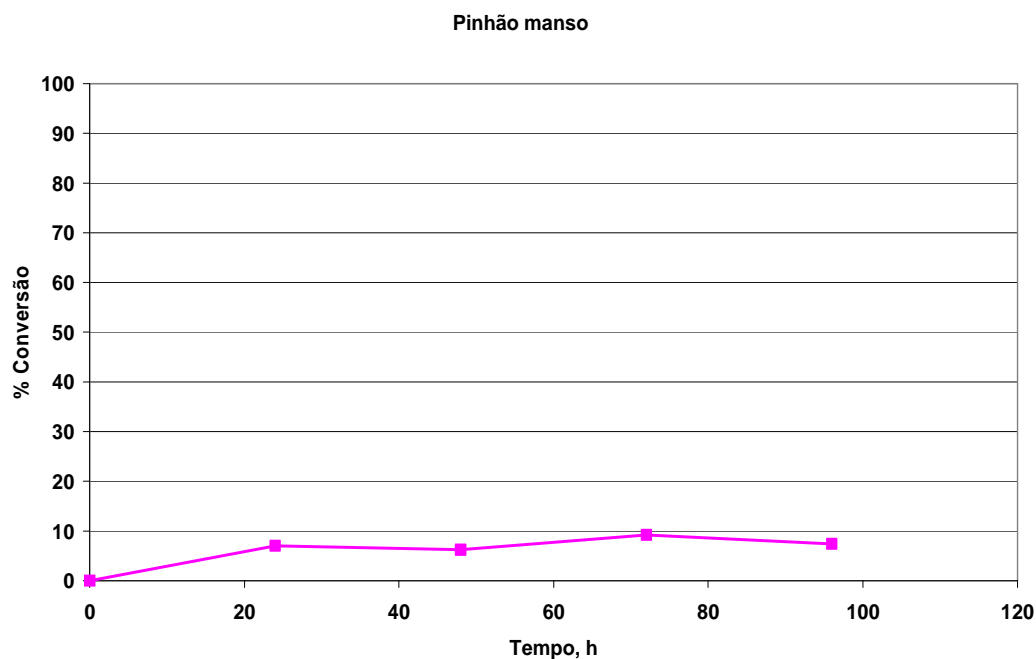
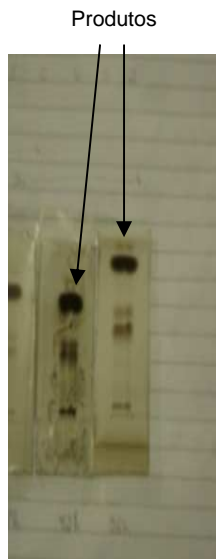


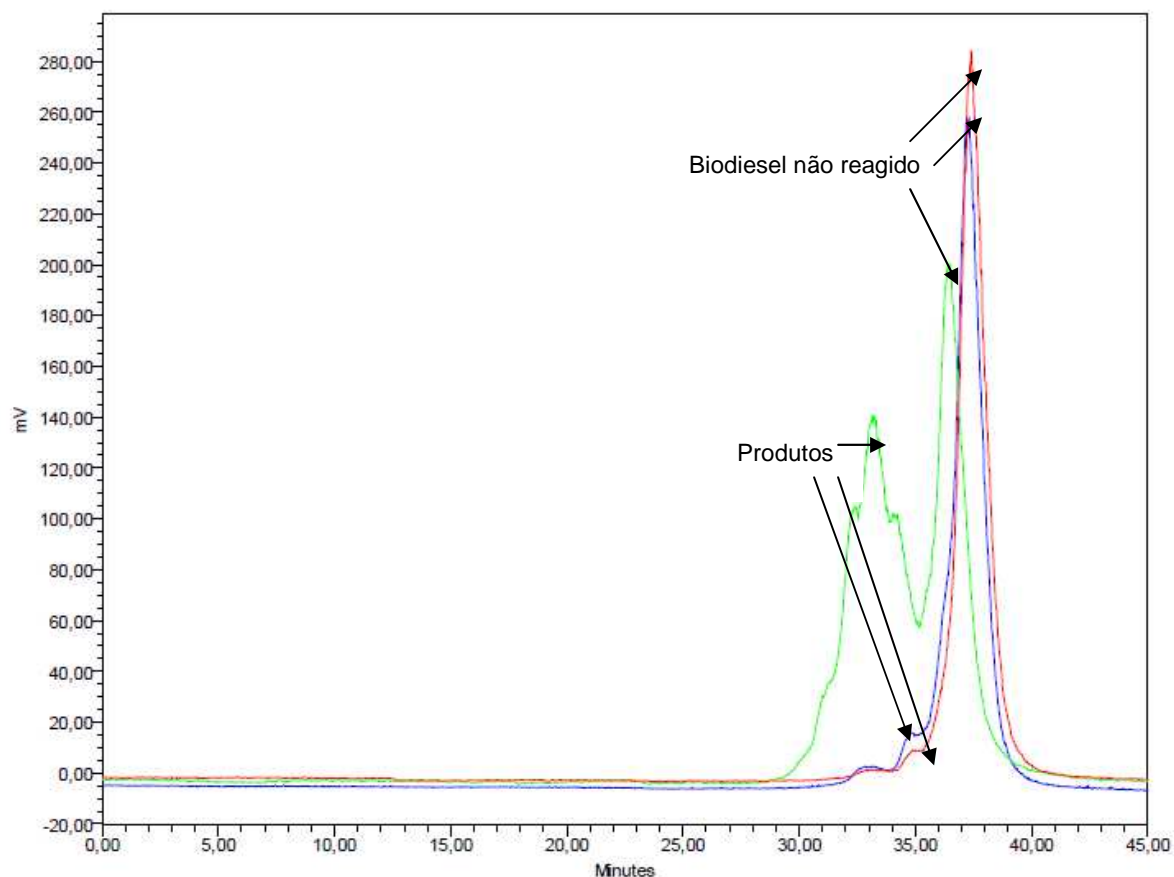
Figura 30: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).





**Figura 31: Placa de TLC mostrando a reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com enzima Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).**

Na Figura 32, estão ilustrados alguns dos cromatogramas obtidos após a reação de transesterificação por até 120 horas, dos biodieseis de mamona, pinhão manso e soja.



**Figura 32: Cromatogramas das reações de transesterificação com enzima Lipomod 34P: Pinhão manso 96h 1500ppm (vermelho), Mamona 120h 1430ppm (verde) e Soja 96h 1488ppm (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=42°C, C<sub>água</sub>=12%, C<sub>enzima</sub>=0,8%, Pressão reduzida=0,01bar).**

Pela análise das curvas, pode-se perceber que o biodiesel de mamona foi o que apresentou maior conversão com a lipase Lipomod 34P. Este fato está de acordo com DE MARÍA *et al*, 2006, os quais relatam a existência de um túnel para o reconhecimento da cadeia do substrato presente apenas nas lipases de *Candida rugosa* e *Geotrichum candidum*. Este túnel tem um tamanho total de cerca de 25Å, e não é reto. Pelo contrário, ele apresenta um formato em forma de “L” o qual se encaixa perfeitamente com os requerimentos estéricos do ricinoleato de metila. Em função da conformação deste túnel, as lipases de *Candida rugosa* (como a Lipomod 34P) não são específicas para uma série de comprimentos de cadeia de ácidos graxos, apresentando baixa atividade quando ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa são utilizados. No caso da reação estudada, a conversão foi maior com o biodiesel de mamona (ricinoleato de metila) em função da configuração da molécula deste éster e também pela presença da hidroxila no carbono 12, a qual possibilita um melhor encaixe no túnel citado em função da maior interação da mesma com os aminoácidos

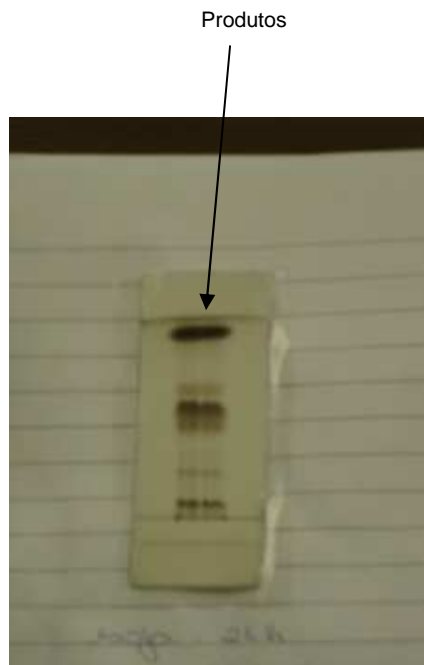
presentes no túnel. As menores conversões observadas com os biodieseis de soja e pinhão manso podem ser explicadas pela maior concentração de ésteres de ácido linoléico e linolênico presentes nos mesmos. Segundo HOU e SHIMADA, 2009, a especificidade das lipases de *Candida rugosa* é afetada pelo comprimento da cadeia linear do ácido graxo, bem como pela quantidade e pela posição das duplas ligações, sendo, provavelmente, menos específica para os biodieseis de pinhão manso e soja, em função da maior presença dos ácidos linoléico e linolênico nestes substratos.

Com o objetivo de se aumentar a conversão obtida (LÄMSA, 1995), deu-se continuidade aos experimentos utilizando, para cada biodiesel, as três enzimas disponíveis em concentrações mais elevadas. O objetivo destas reações foi o de verificar qual par biodiesel/enzima apresentava resultados mais promissores.

Estas reações foram analisadas em 48 e 72 horas, nas seguintes condições descritas abaixo:

- Razão molar Biodiesel/TMP: 4,5:1;
- Temperatura: 45°C;
- Teor de água: 14,85% m/m;
- Teor de enzima: 4,00% m/m;
- Pressão atmosférica.

Conforme discutido anteriormente, a presença de vácuo se justifica pela necessidade de deslocamento do equilíbrio da reação através da remoção de metanol. Entretanto, nas reações preliminares foi observado que o forte vácuo aplicado (0,01 bar) provocava uma grande agitação no meio reacional, em função da vaporização do metanol, provocando a projeção de partículas de enzima nas paredes do reator, as quais não participavam da reação, reduzindo a conversão. Resolveu-se então proceder estas novas reações sem o uso de vácuo. Inicialmente foi realizada uma reação sem o uso de vácuo por 24 horas com biodiesel de soja, acompanhada por TLC, conforme Figura 33.



**Figura 33: Placa de TLC mostrando produtos formados pela reação do biodiesel metílico de soja com TMP utilizando a enzima Lipomod 34P, sem o uso de vácuo (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

As Tabelas 14, 15 e 16 mostram os resultados de conversão para cada um dos três tipos de biodiesel com as 3 enzimas. Em função da dificuldade de resolução da cromatografia por TLC (manchas muito próximas e com pouca nitidez), a partir desta etapa as reações foram acompanhadas exclusivamente por HPLC.

**Tabela 14: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de mamona e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Lipase	Conversão 48 h (%)	Conversão 72 h (%)
Novozym 435	6,2	10,2
Lipozyme RM IM	11,8	13,6
Lipomod 34P	72,3	93,0

**Tabela 15: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de soja e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Lipase	Conversão 48 h (%)	Conversão 72 h (%)
Novozym 435	20,3	26,3
Lipozyme RM IM	26,2	33,1
Lipomod 34P	24,3	21,4

**Tabela 16: Reação de transesterificação entre biodiesel metílico de pinhão manso e TMP com as enzimas Novozym 435, Lipozyme RM IM e Lipomod 34P (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Lipase	Conversão 48 h (%)	Conversão 72 h (%)
Novozym 435	81,6	88,7
Lipozyme RM IM	67,5	84,2
Lipomod 34P	51,3	72,6

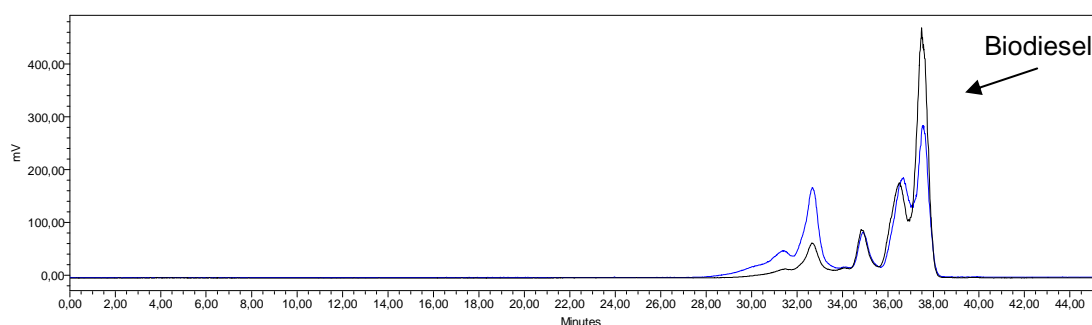
Pode-se observar que as conversões foram superiores às obtidas nas reações preliminares, evidenciando que a ausência de vácuo apresentou um efeito benéfico à reação, uma vez que foram evitados os problemas operacionais advindos do forte vácuo aplicado nas mesmas, devido, por exemplo, ao elevado volume ocupado do reator. Além disso, foi utilizada uma maior quantidade de enzima.

Para cada substrato, uma enzima distinta apresentou maior conversão, a saber: mamona (Lipomod 34P), soja (Lipozyme RM IM) e pinhão manso (Novozym 435). Esta especificidade observada se deve, possivelmente, às características estruturais particulares de cada enzima, sendo mais evidente no caso da lipase Lipomod 34P e do biodiesel de mamona, uma vez que esta enzima é específica na posição 1 (átomo de carbono da carbonila) da molécula de biodiesel, quando comparado à posição da hidroxila presente no carbono 12 (FACCIO, 2004), além de apresentar uma conformação estrutural que se adequa perfeitamente a esta hidroxila. Além disso, este resultado está de acordo com HOU e SHIMADA, 2009, que descreveram que a lipase de *Candida rugosa* vem sendo utilizada industrialmente na hidrólise do óleo de mamona.

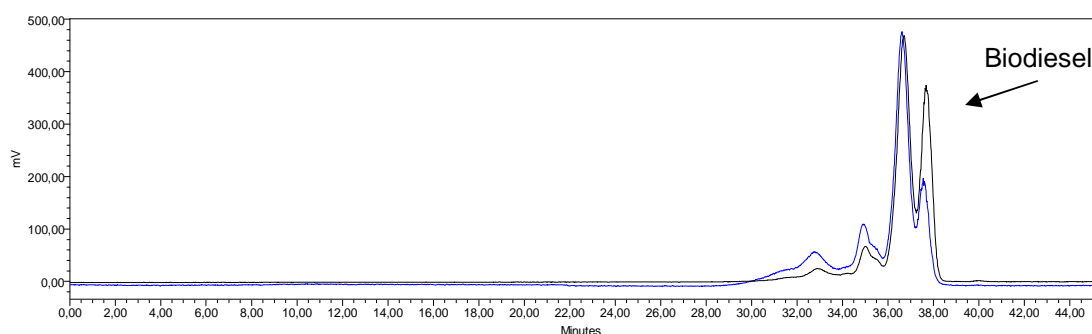
Os óleos de soja e de pinhão manso apresentam similaridade em sua composição de ácidos graxos. Conseqüentemente, os biodieseis obtidos destas matérias-primas apresentam propriedades e composições bastante semelhantes. Entretanto, comparando-se as Tabelas 15 e 16, pode-se observar que as conversões

encontradas para o biodiesel de soja (Tabela 15) foram sempre inferiores às obtidas para o biodiesel de pinhão manso (Tabela 16), para quaisquer das enzimas testadas. As conversões obtidas com o biodiesel de soja foram mais baixas devido, provavelmente, a contaminantes no mesmo, tais como fosfolipídios (FREIRE *et al*, 2011) e produtos de oxidação, os quais inibem ou inativam a enzima utilizada. Para se obter maiores conversões, um pré-tratamento deste biodiesel se faz necessário (WANG e GORDON, 1991; OHTA *et al*, 1989).

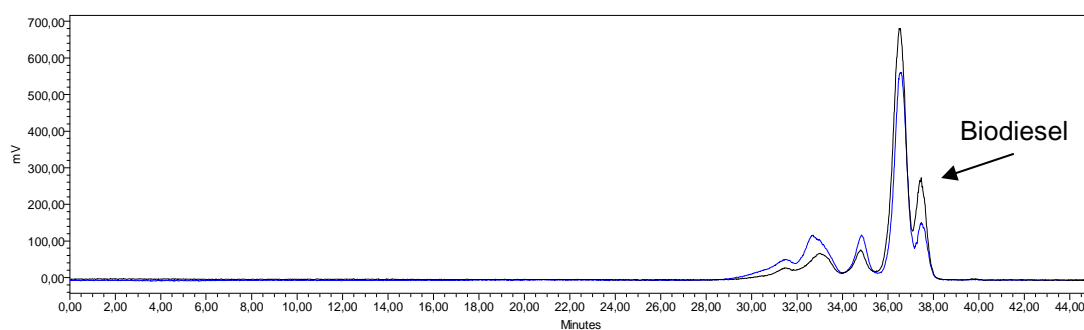
Nos cromatogramas das Figuras 34, 35 e 36, verifica-se a gradual diminuição do pico referente ao reagente de partida (biodiesel de pinhão manso) e o aumento dos picos de produtos, ao longo do tempo. Pelos dados da Tabela 16, também se torna evidente a maior conversão obtida com a enzima Novozym 435, a qual se apresentou como a mais promissora para o biodiesel de pinhão manso.



**Figura 34: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Lipomod 34P. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**



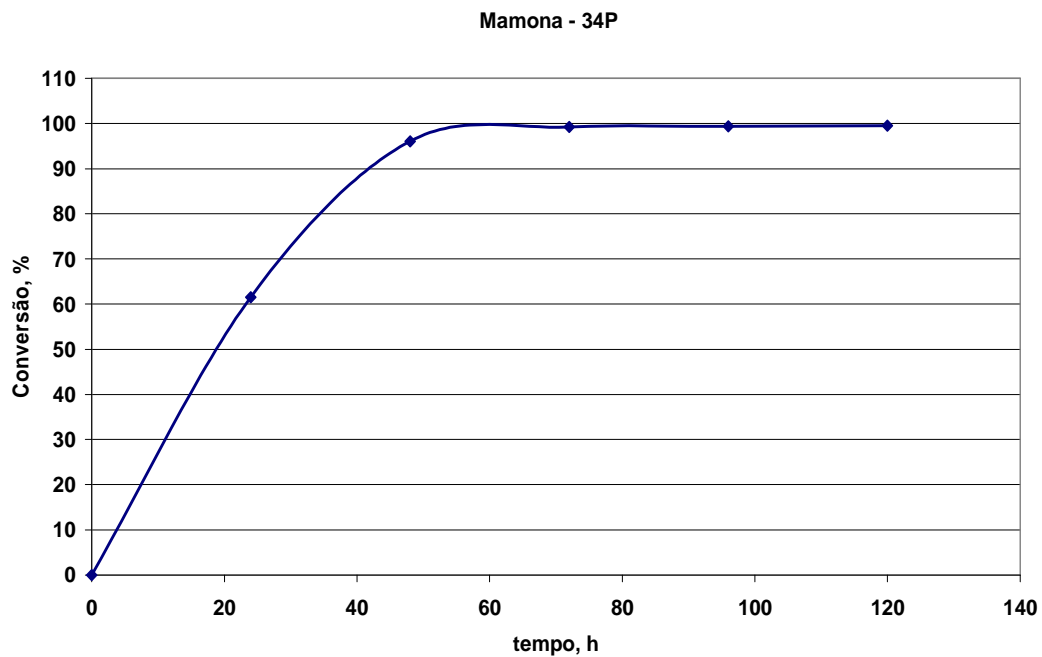
**Figura 35: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Lipozyme RM IM. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**



**Figura 36: Cromatograma da reação do biodiesel de pinhão manso com TMP, empregando a lipase Novozym 435. 48h (preto) e 72h (azul) (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Com o objetivo de se determinar a cinética da reação e escolher o tempo onde ocorreu a conversão máxima, a ser adotado nas reações seguintes, as quais comporiam um planejamento fatorial, resolveu-se escolher os biodieseis de mamona e de pinhão manso para se construir uma curva de conversão versus tempo. Todas as reações foram realizadas segundo as condições descritas anteriormente. Para cada biodiesel foi escolhida a enzima que apresentou maiores conversões: Lipomod 34P de *Candida rugosa* para o biodiesel de mamona e Novozyme 435 de *Candida antarctica* para o biodiesel de pinhão manso.

Os gráficos das Figuras 37 e 39 mostram a cinética da reação obtida até 120 horas, com amostragens a cada 24 horas. Os cromatogramas das Figuras 38 e 40 mostram o desaparecimento do substrato (biodiesel) e o aparecimento do produto (biolubrificante) ao longo do tempo de reação. Nos cromatogramas da Figura 38 pode se observar a presença de mais de um produto. Isto ocorre devido à formação de produtos mono, di e tri-substituídos, além de dímeros (estes últimos através da hidroxila), embora os mono e di-substituídos e os dímeros tenham sido formados em uma quantidade bem menor do que a observada no mesmo experimento na catálise química (SILVA, 2006).



**Figura 37: Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P.**



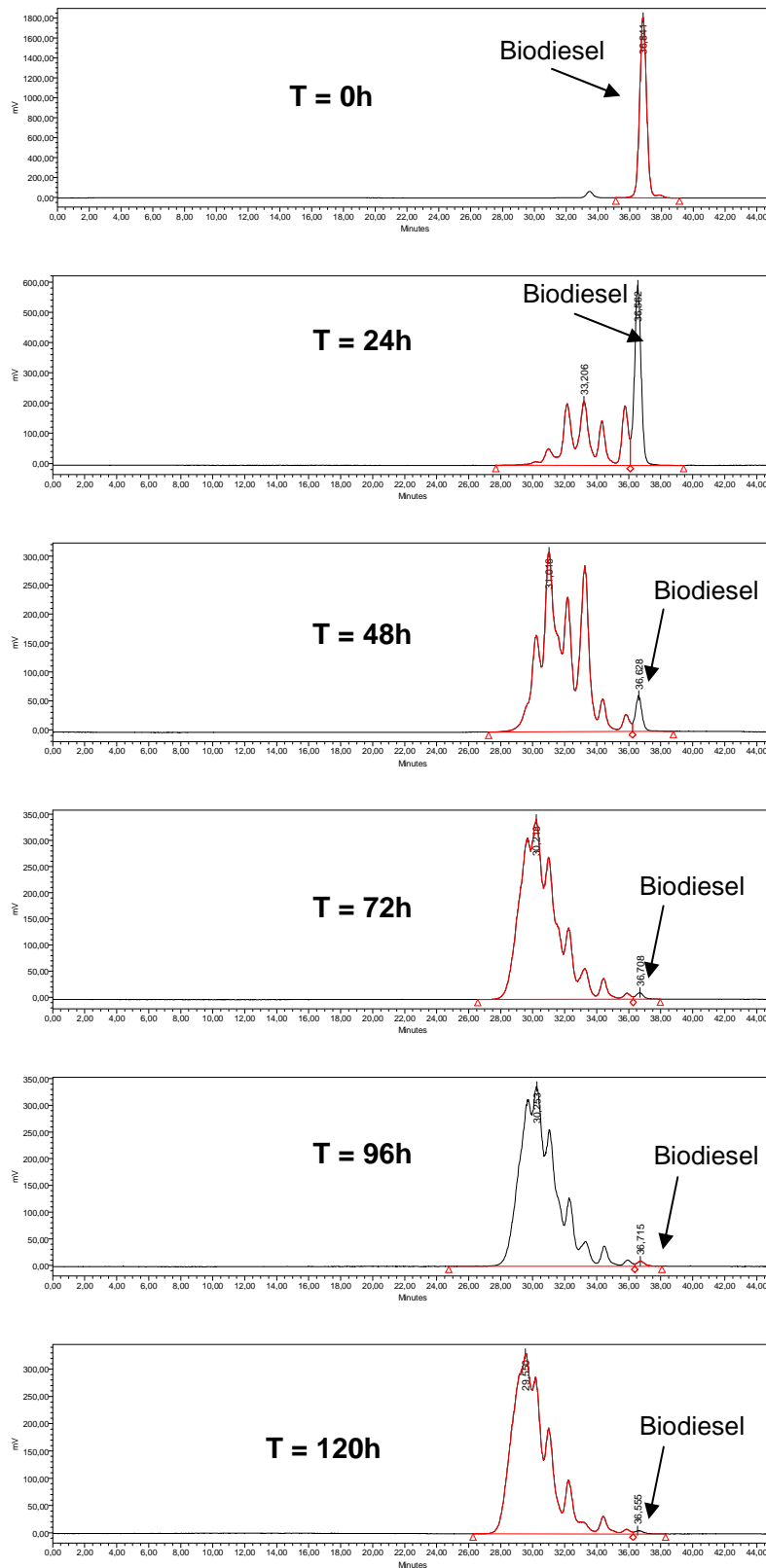
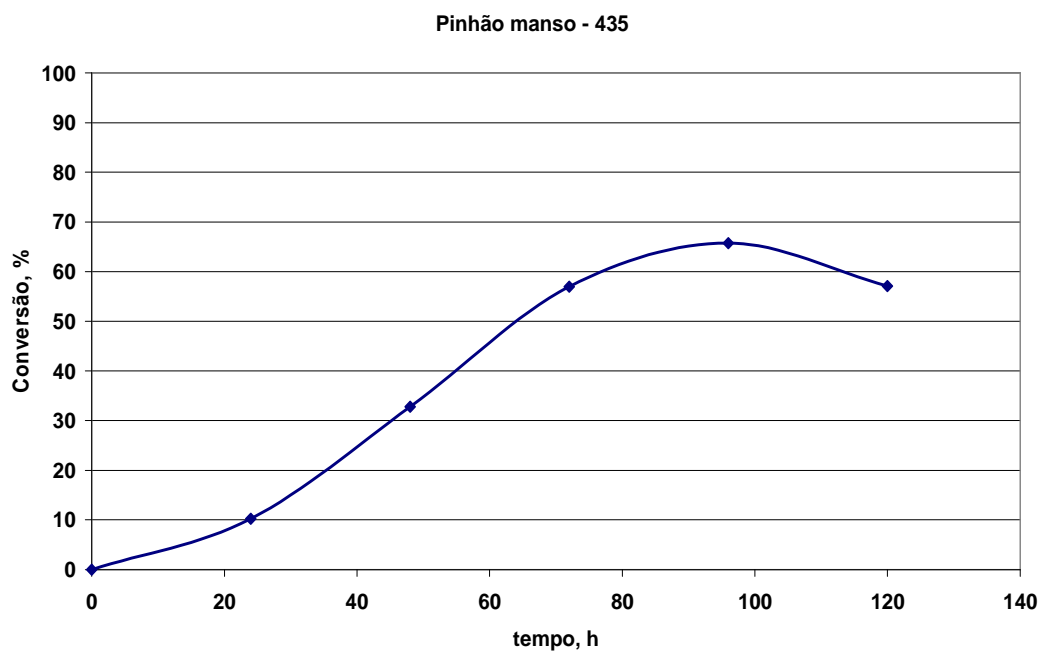
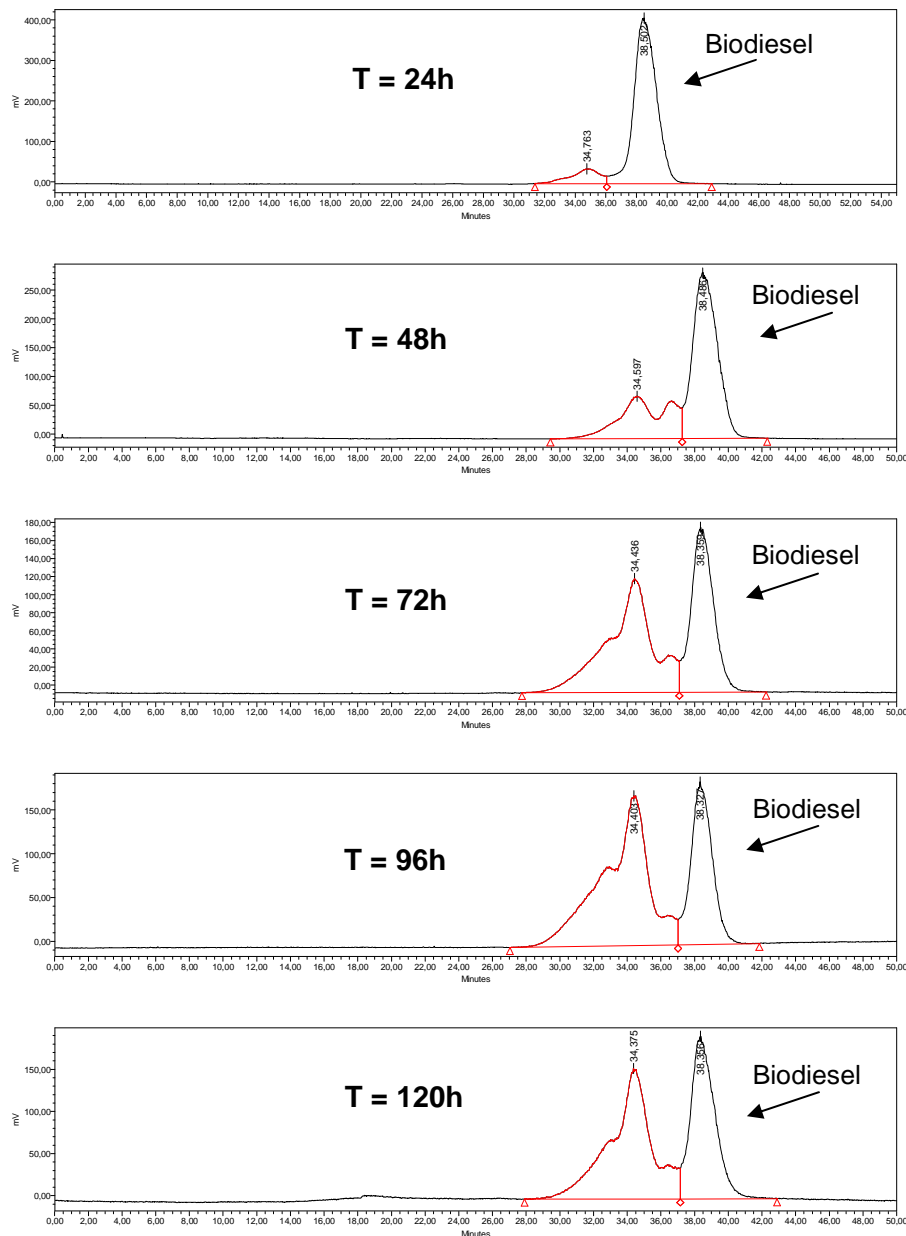


Figura 38: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P.



**Figura 39:** Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de pinhão manso e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%), empregando a enzima Novozym 435.

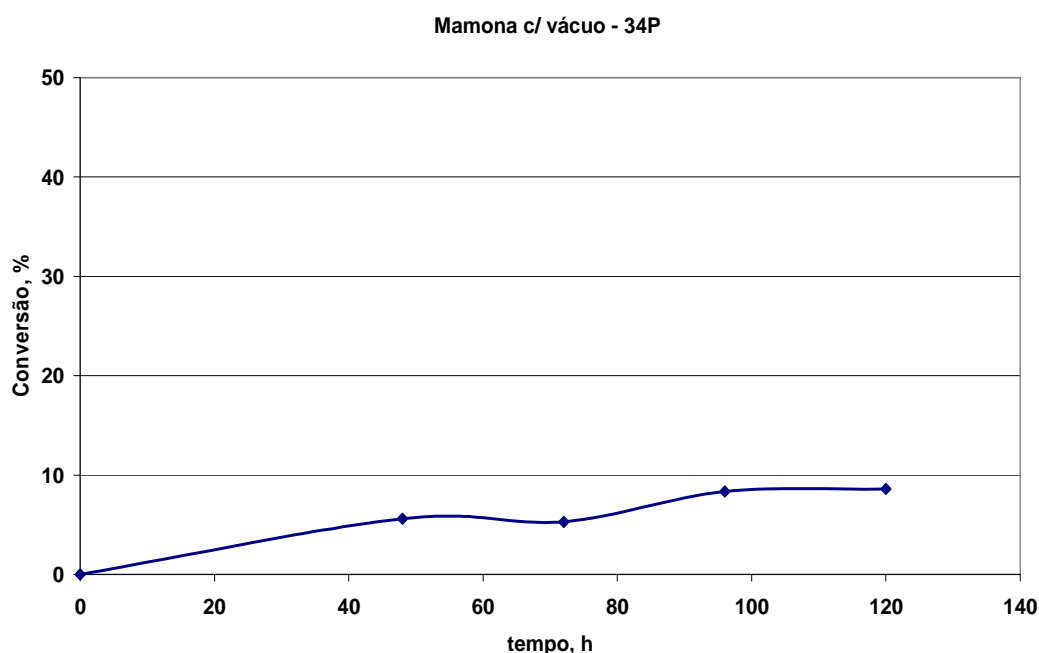


**Figura 40: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de pinhão manso e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%), empregando a enzima Novozym 435.**

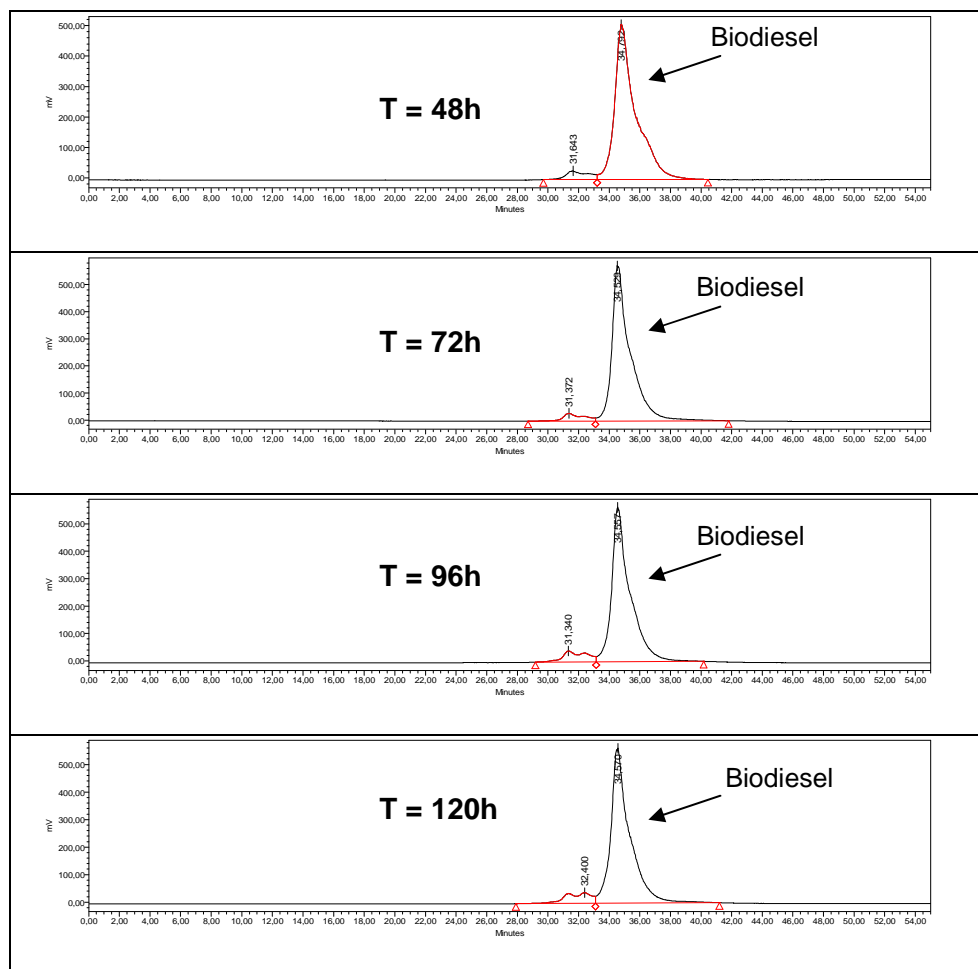
Estas reações com pinhão manso empregando a lipase Novozym 435 (*Candida antarctica*) poderiam apresentar maiores conversões se fosse realizado um estudo de otimização das condições reacionais utilizadas, com a realização de vários experimentos em repetibilidade. Por se tratar de um biocatalisador imobilizado, devem ser levados em conta outros parâmetros reacionais, tais como a agitação do sistema reacional, a temperatura e a presença de solvente, para minimizar os efeitos de

difusão que ocorrem quando biocatalisadores imobilizados são empregados (HOU e SHIMADA, 2009).

Com o objetivo de se investigar o efeito da pressão sobre a reação de transesterificação nas novas condições reacionais, analisou-se a evolução da conversão da reação com o biodiesel de mamona e a enzima 34P, sob vácuo. As Figuras 41 e 42 mostram esta cinética. Como pode ser notado, os valores de conversão obtidos foram bem inferiores aos das reações sem o uso de vácuo. Este fato pode ser explicado em função do pequeno volume do reator utilizado, possibilitando que a enzima adicionada fosse projetada nas paredes do mesmo, sob o efeito da agitação e favorecida pela presença do forte vácuo, diminuindo a disponibilidade de biocatalisador para a reação. Ou seja, trata-se de um efeito físico, decorrente da utilização de um sistema reacional não adequado para a intensidade do vácuo empregado. Além disso, os resultados deste experimento diferem dos observados na reação preliminar da Figura 26, em função da temperatura e do teor de água terem sido maiores nesta reação do que na preliminar.



**Figura 41: Curva de conversão x tempo para a reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%), empregando a enzima Lipomod 34P, sob vácuo.**



**Figura 42: Cromatogramas da reação de transesterificação do biodiesel de mamona e TMP (Biod/TMP=4,5:1,  $T=45^{\circ}\text{C}$ ,  $C_{\text{água}}=14,85\%$ ,  $C_{\text{enzima}}=4,0\%$ ), empregando a enzima Lipomod 34P, sob vácuo.**

Com o objetivo de se verificar a possibilidade de se proceder as reações em presença de solvente, para aumentar a transferência de massa, realizou-se a reação de transesterificação do biodiesel de mamona com a enzima 34P na presença de um solvente (hexano). Entretanto, não houve formação de produtos na reação, possivelmente pela inativação da enzima na presença do hexano (GUNSTONE e PADLEY, 1997). Diferentemente da Novozyme 435 (imobilizada), esta preparação de lipase (Lipomod 34P), de *Candida rugosa*, encontra-se apenas liofilizada, o que possivelmente a torna mais susceptível à desativação por solventes orgânicos, como hexano. Diversos autores preconizam a utilização de técnicas de imobilização para proteger a enzima dos efeitos deletérios dos solventes, da temperatura, e outros agentes desativadores (RANGANATHAN *et al*, 2008).

Os experimentos das Tabelas 14, 15 e 16, nas condições (Biod/TMP=4,5:1,  $T=45^{\circ}\text{C}$ ,  $C_{\text{água}}=14,85\%$ ,  $C_{\text{enzima}}=4,0\%$ ), foram paralisados nos tempos de 24 e 48 h, para os biodieseis de soja e de pinhão manso, e de 24, 48, 72, 96 e 120 horas, para o

biodiesel de mamona, e repetidos duas vezes, com o objetivo de se produzir quantidade suficiente de produtos que possibilitasse uma caracterização físico-química dos mesmos. Desta maneira, foram realizados ensaios de viscosidade a 40 e 100°C, cálculo do IV, ensaio de ponto de fluidez e de estabilidade oxidativa. Estes resultados estão apresentados nas Tabelas 17, 18 e 19.

**Tabela 17: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de soja (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Ensaio	34P(4%)	34P(4%)	435(4%)	435(4%)	Lipozyme	Lipozyme
	48h	72h	48h	72h	(4%) 48h	(4%) 72h
Ponto de Fluidez (°C)	-3	-3	3	-3	3	3
Viscosidade a 40°C (cSt)	8,250	7,750	17,75	17,96	13,81	14,81
Viscosidade a 100°C (cSt)	2,700	2,570	4,290	4,390	3,710	3,900
Índice de Viscosidade	191	188	156	163	167	169

**Tabela 18: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de pinhão manso (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Ensaio	34P(4%)	34P(4%)	435(4%)	435(4%)	Lipozyme(4%)	Lipozyme(4%)
	48h	72h	48h	72h	48h	72h
Ponto de Fluidez (°C)	0	3	12	12	9	15
Viscosidade a 40°C (cSt)	17,16	36,09	24,96	33,86	18,64	42,24
Viscosidade a 100°C (cSt)	3,820	6,100	4,920	6,670	4,070	6,410
Índice de Viscosidade	114	115	123	158	119	100

**Tabela 19: Caracterização dos produtos obtidos com o biodiesel de mamona (Biod/TMP=4,5:1, T=45°C, C<sub>água</sub>=14,85%, C<sub>enzima</sub>=4,0%).**

Ensaio	34P(4%)	34P(4%)	34P(4%)	34P(4%)	34P(4%)	34P(4%)
	0h	24h	48h	72h	96h	120h
Ponto de Fluidez (°C)	-27	-27	-42	-39	-42	-36
Viscosidade a 40°C (cSt)	17,25	76,73	167,6	291,6	307,6	383,6
Viscosidade a 100°C (cSt)	3,580	9,240	16,41	27,59	29,16	38,33
Índice de Viscosidade	137	95	102	126	129	148
RPVOT (min)	-	-	-	40	-	-

Como se pode observar, os produtos obtidos a partir do biodiesel de mamona foram os que apresentaram pontos de fluidez mais baixos e mais altas viscosidades. A estabilidade oxidativa deste produto também foi 90% superior à obtida por meio de catálise química (SILVA, 2006), porém bastante aquém do resultado típico de um óleo

básico mineral (~90 min). Entretanto, o ensaio RPVOT não é o mais adequado para a comparação de óleos minerais com óleos vegetais, conforme já discutido na seção 2.4.3.1 do capítulo 2 (Lubrificantes e Biolubrificantes). Devido à disponibilidade de quantidade suficiente de amostra (~100g) para a realização do ensaio de estabilidade oxidativa (RPVOT), só foi possível a análise do produto derivado do biodiesel de mamona com a lipase Lipomod 34P para o tempo de 72 horas. Estes resultados se devem, possivelmente, à maior especificidade da lipase de *Candida rugosa* utilizada (FACCIO, 2004), quando comparada aos catalisadores químicos. Possivelmente, a catálise enzimática reduziu bastante a formação de subprodutos comparativamente à catálise química. Estes subprodutos afetam diretamente a estabilidade oxidativa, devido ao fato de consistirem em moléculas que não apresentam a estrutura do TMP totalmente substituída, constituindo-se em mono e di-glicerídeos, os quais são menos ramificados e menos resistentes à oxidação, em função da ausência do impedimento estérico observado nos tri-substituídos.

Já em termos de índice de viscosidade, os produtos obtidos a partir do biodiesel de soja foram os que apresentaram maiores valores, devido ao fato dos mesmos apresentarem em sua composição uma quantidade maior de moléculas de ácidos graxos (ácido linoléico) com duas duplas ligações.

Em relação ao ponto de fluidez, observou-se uma nítida diferença entre os produtos derivados do biodiesel de mamona e os demais. O fato da molécula do ricinoleato de metila apresentar apenas uma dupla ligação, além de uma hidroxila, faz com que as propriedades em baixas temperaturas do biolubrificante derivado dele sejam diferentes das dos biolubrificantes derivados dos biodieseis de pinhão manso e de soja. Já os produtos derivados do biodiesel de soja apresentam pontos de fluidez mais baixos do que os derivados do biodiesel de pinhão manso em função do maior teor de ácido linoléico presente na composição do biodiesel de soja. As presenças do grupo hidroxila e da dupla ligação na molécula do biodiesel de mamona contribuem para um baixo ponto de fluidez do mesmo, em função da geometria espacial da dupla ligação e da hidroxila evitarem um empacotamento da molécula, fazendo com que a mesma permaneça fluida em baixas temperaturas (VIEIRA, 2012).

Em função das propriedades físico-químicas obtidas, das maiores conversões e do caráter inédito da pesquisa, escolheu-se o sistema reacional composto pelo biodiesel metílico de mamona e a enzima Lipomod 34P para dar continuidade a este estudo.

### **6.3 Planejamento Experimental**

Foram realizadas 54 reações para cada tempo, distribuídas aleatoriamente no tocante à ordem de execução, conforme ilustrado nas Tabelas 20 e 21.



**Tabela 20: Planejamento fatorial 3<sup>4-1</sup> com 72 horas de reação.**

Experimento	Réplica	% Enzima	% Água	Temperatura (°C)	Razão Molar (Biod./TMP)	Conversão do Biodiesel (%)
1	1	1,0	1,0	40	3,130	68,15
2	1	1,0	1,0	45	4,700	45,14
3	1	1,0	1,0	50	3,915	6,99
4	1	1,0	6,0	40	4,700	74,76
5	1	1,0	6,0	45	3,915	5,13
6	1	1,0	6,0	50	3,130	3,45
7	1	1,0	11,0	40	3,915	93,23
8	1	1,0	11,0	45	3,130	7,39
9	1	1,0	11,0	50	4,700	4,71
10	1	2,5	1,0	40	4,700	95,17
11	1	2,5	1,0	45	3,915	96,03
12	1	2,5	1,0	50	3,130	14,14
13	1	2,5	6,0	40	3,915	67,76
14	1	2,5	6,0	45	3,130	6,01
15	1	2,5	6,0	50	4,700	4,16
16	1	2,5	11,0	40	3,130	95,86
17	1	2,5	11,0	45	4,700	95,66
18	1	2,5	11,0	50	3,915	5,04
19	1	4,0	1,0	40	3,915	97,53
20	1	4,0	1,0	45	3,130	97,12
21	1	4,0	1,0	50	4,700	74,58
22	1	4,0	6,0	40	3,130	93,64
23	1	4,0	6,0	45	4,700	9,37
24	1	4,0	6,0	50	3,915	5,12
25	1	4,0	11,0	40	4,700	94,92
26	1	4,0	11,0	45	3,915	97,45
27	1	4,0	11,0	50	3,130	6,04
28	2	1,0	1,0	40	3,130	65,62
29	2	1,0	1,0	45	4,700	49,52
30	2	1,0	1,0	50	3,915	9,60
31	2	1,0	6,0	40	4,700	70,75
32	2	1,0	6,0	45	3,915	5,92
33	2	1,0	6,0	50	3,130	3,83
34	2	1,0	11,0	40	3,915	96,20
35	2	1,0	11,0	45	3,130	5,11
36	2	1,0	11,0	50	4,700	4,57
37	2	2,5	1,0	40	4,700	94,79
38	2	2,5	1,0	45	3,915	95,32
39	2	2,5	1,0	50	3,130	12,80
40	2	2,5	6,0	40	3,915	66,26
41	2	2,5	6,0	45	3,130	9,00
42	2	2,5	6,0	50	4,700	6,05
43	2	2,5	11,0	40	3,130	95,80
44	2	2,5	11,0	45	4,700	95,98
45	2	2,5	11,0	50	3,915	7,44
46	2	4,0	1,0	40	3,915	95,42
47	2	4,0	1,0	45	3,130	96,10
48	2	4,0	1,0	50	4,700	74,24
49	2	4,0	6,0	40	3,130	94,33
50	2	4,0	6,0	45	4,700	15,43
51	2	4,0	6,0	50	3,915	6,77
52	2	4,0	11,0	40	4,700	96,28
53	2	4,0	11,0	45	3,915	96,85
54	2	4,0	11,0	50	3,130	6,66

Com o auxílio do programa *Statistica*, foram obtidos a tabela ANOVA, o cálculo dos efeitos, os coeficientes de regressão do modelo e o gráfico de Pareto para o tempo de 72 horas de reação, conforme descrito nas Tabelas 21 a 23 e na Figura 43.

**Tabela 21: Tabela ANOVA para os experimentos com 72 horas.**

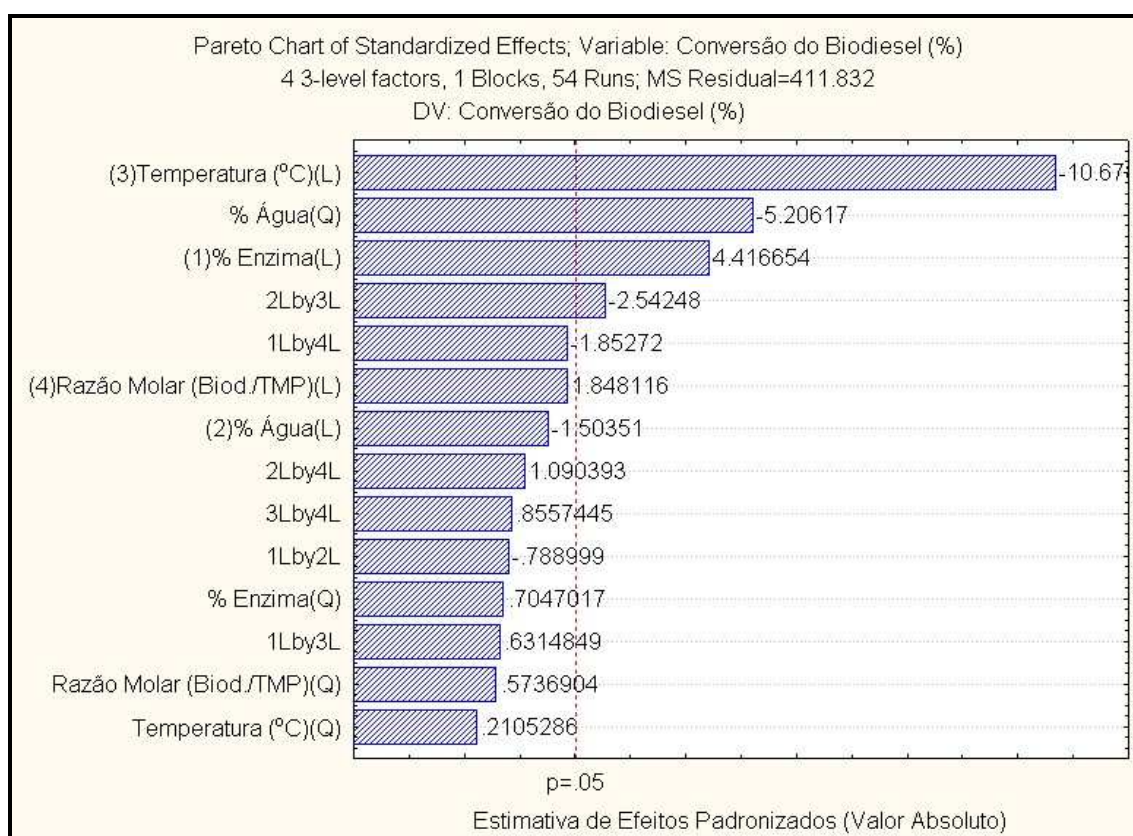
Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1)% Enzima L+Q	8238,05	2	4119,03	10,002	0,000312
(2)% Água L+Q	12093,35	2	6046,68	14,682	0,000018
(3)Temperatura (°C) L+Q	46982,92	2	23491,46	57,041	0,000000
(4)Razão Molar (Biod./TMP) L+Q	1542,17	2	771,08	1,872	0,167327
1*2	256,37	1	256,37	0,623	0,434883
1*3	164,23	1	164,23	0,399	0,531408
1*4	1413,64	1	1413,64	3,433	0,071501
2*3	2662,17	1	2662,17	6,464	0,015089
2*4	489,65	1	489,65	1,189	0,282232
3*4	301,58	1	301,58	0,732	0,397366
Erro Puro	16061,45	39	411,83		
Soma Quadrática Total	89520,53	53			

**Tabela 22: Efeitos para os experimentos com 72 horas.**

Fator	Efeito	Erro Padrão	t(39)	p	-95.% Limite de Cnf	+95.% Limite de Cnf	Coef.	Erro Padrão Coef.	-95.% Limite de Cnf	+95.% Limite de Cnf
(3)Temperatura (°C)(L)	-72,2378	6,764548	-10,6789	0,000000	-85,9204	-58,5552	-36,1189	3,382274	-42,9602	-29,2776
Média/Intercepção	50,7628	2,761615	18,3816	0,000000	45,1769	56,3487	50,7628	2,761615	45,1769	56,3487
% Água(Q)	-30,4992	5,858270	-5,2062	0,000007	-42,3486	-18,6497	-15,2496	2,929135	-21,1743	-9,3248
(1)% Enzima(L)	29,8767	6,764548	4,4167	0,000077	16,1941	43,5593	14,9383	3,382274	8,0970	21,7796
2L X 3L	-21,7549	8,556552	-2,5425	0,015089	-39,0621	-4,4476	-10,8774	4,278276	-19,5311	-2,2238
1L X 4L	-15,8529	8,556552	-1,8527	0,071501	-33,1601	1,4544	-7,9264	4,278276	-16,5801	0,7272
(4)Razão Molar (Biod./TMP)(L)	12,5017	6,764548	1,8481	0,072179	-1,1809	26,1843	6,2508	3,382274	-0,5905	13,0921
(2)% Água(L)	-10,1706	6,764548	-1,5035	0,140763	-23,8531	3,5120	-5,0853	3,382274	-11,9266	1,7560
2L X 4L	9,3300	8,556552	1,0904	0,282232	-7,9773	26,6373	4,6650	4,278276	-3,9886	13,3186
3L X 4L	7,3222	8,556552	0,8557	0,397366	-9,9850	24,6295	3,6611	4,278276	-4,9925	12,3147
1L X 2L	-6,7511	8,556552	-0,7890	0,434883	-24,0584	10,5561	-3,3756	4,278276	-12,0292	5,2781
1L X 3L	5,4033	8,556552	0,6315	0,531408	-11,9039	22,7106	2,7017	4,278276	-5,9520	11,3553
% Enzima(Q)	4,1283	5,858270	0,7047	0,485183	-7,7211	15,9778	2,0642	2,929135	-3,8606	7,9889
Razão Molar (Biod./TMP)(Q)	3,3608	5,858270	0,5737	0,569471	-8,4886	15,2103	1,6804	2,929135	-4,2443	7,6052
Temperatura (°C)(Q)	1,2333	5,858270	0,2105	0,834351	-10,6161	13,0828	0,6167	2,929135	-5,3081	6,5414

**Tabela 23: Coeficientes de regressão para os experimentos com 72 horas.**

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(39)	p	-95.% Limite de cnf	+95.% Limite de cnf
Média/Intercepção	36,2450	8,284845	4,3749	0,000088	19,4873	53,0027
(3)Temperatura (°C)(L)	-36,1189	3,382274	-10,6789	0,000000	-42,9602	-29,2776
% Água(Q)	30,4992	5,858270	5,2062	0,000007	18,6497	42,3486
(1)% Enzima(L)	14,9383	3,382274	4,4167	0,000077	8,0970	21,7796
2L X 3L	-10,8774	4,278276	-2,5425	0,015089	-19,5311	-2,2238
1L X 4L	-7,9264	4,278276	-1,8527	0,071501	-16,5801	0,7272
(4)Razão Molar (Biod./TMP)(L)	6,2508	3,382274	1,8481	0,072179	-0,5905	13,0921
(2)% Água(L)	-5,0853	3,382274	-1,5035	0,140763	-11,9266	1,7560
2L X 4L	4,6650	4,278276	1,0904	0,282232	-3,9886	13,3186
% Enzima(Q)	-4,1283	5,858270	-0,7047	0,485183	-15,9778	7,7211
3L X 4L	3,6611	4,278276	0,8557	0,397366	-4,9925	12,3147
1L X 2L	-3,3756	4,278276	-0,7890	0,434883	-12,0292	5,2781
Razão Molar (Biod./TMP)(Q)	-3,3608	5,858270	-0,5737	0,569471	-15,2103	8,4886
1L X 3L	2,7017	4,278276	0,6315	0,531408	-5,9520	11,3553
Temperatura (°C)(Q)	-1,2333	5,858270	-0,2105	0,834351	-13,0828	10,6161



**Figura 43: Gráfico de Pareto para os experimentos com 72 horas.**

Conforme pôde ser visto, a variável temperatura foi a que apresentou maior efeito estatístico sobre o rendimento da reação estudada. Em média, um aumento na temperatura do nível inferior (40°C) para o nível superior (50°C), provocou uma

redução de aproximadamente 72% na conversão. Isto de certa forma já era esperado, uma vez que em temperaturas maiores a lipase da *Candida rugosa* pode ter a sua atividade reduzida (GUNSTONE e PADLEY, 1997). Em seguida estão as variáveis teor de água e teor de enzima. Um aumento no teor de água do nível inferior (1%) para o nível superior (11%) ocasionou uma redução de aproximadamente 30% na conversão. Isto se explica em função de um aumento na atividade de água favorecer a reação de hidrólise e a mesma atuar como inibidor competitivo da reação de transesterificação (GUNSTONE e PADLEY, 1997). E um aumento no teor de enzima de 1 para 4% provocou um crescimento médio de 30% na conversão da reação, devido à maior disponibilidade de biocatalisador (LÄMSA, 1995).

**Tabela 24: Planejamento fatorial 3<sup>4-1</sup> com 100 horas de reação.**

Experimento	Réplica	% Enzima	% Água	Temperatura (°C)	Razão Molar (Biod./TMP)	Conversão do Biodiesel (%)
1	1	1,0	1,0	40	3,130	62,22
2	1	1,0	1,0	45	4,700	82,26
3	1	1,0	1,0	50	3,915	89,92
4	1	1,0	6,0	40	4,700	78,36
5	1	1,0	6,0	45	3,915	7,99
6	1	1,0	6,0	50	3,130	3,26
7	1	1,0	11,0	40	3,915	96,85
8	1	1,0	11,0	45	3,130	8,03
9	1	1,0	11,0	50	4,700	4,23
10	1	2,5	1,0	40	4,700	96,44
11	1	2,5	1,0	45	3,915	96,93
12	1	2,5	1,0	50	3,130	13,46
13	1	2,5	6,0	40	3,915	92,62
14	1	2,5	6,0	45	3,130	12,02
15	1	2,5	6,0	50	4,700	4,50
16	1	2,5	11,0	40	3,130	91,63
17	1	2,5	11,0	45	4,700	76,00
18	1	2,5	11,0	50	3,915	6,54
19	1	4,0	1,0	40	3,915	95,58
20	1	4,0	1,0	45	3,130	92,40
21	1	4,0	1,0	50	4,700	92,00
22	1	4,0	6,0	40	3,130	98,10
23	1	4,0	6,0	45	4,700	19,85
24	1	4,0	6,0	50	3,915	10,12
25	1	4,0	11,0	40	4,700	96,94
26	1	4,0	11,0	45	3,915	93,93
27	1	4,0	11,0	50	3,130	7,46
28	2	1,0	1,0	40	3,130	64,32
29	2	1,0	1,0	45	4,700	84,25
30	2	1,0	1,0	50	3,915	90,32
31	2	1,0	6,0	40	4,700	83,59
32	2	1,0	6,0	45	3,915	5,69
33	2	1,0	6,0	50	3,130	4,07
34	2	1,0	11,0	40	3,915	92,06
35	2	1,0	11,0	45	3,130	9,41
36	2	1,0	11,0	50	4,700	4,72
37	2	2,5	1,0	40	4,700	97,92
38	2	2,5	1,0	45	3,915	96,45
39	2	2,5	1,0	50	3,130	13,20
40	2	2,5	6,0	40	3,915	87,38
41	2	2,5	6,0	45	3,130	6,56
42	2	2,5	6,0	50	4,700	5,25
43	2	2,5	11,0	40	3,130	92,28
44	2	2,5	11,0	45	4,700	79,90
45	2	2,5	11,0	50	3,915	5,03
46	2	4,0	1,0	40	3,915	98,30
47	2	4,0	1,0	45	3,130	94,44
48	2	4,0	1,0	50	4,700	97,11
49	2	4,0	6,0	40	3,130	97,99
50	2	4,0	6,0	45	4,700	19,27
51	2	4,0	6,0	50	3,915	6,75
52	2	4,0	11,0	40	4,700	97,29
53	2	4,0	11,0	45	3,915	93,14
54	2	4,0	11,0	50	3,130	6,34

Assim como no planejamento anterior, com o auxílio do programa *Statistica*, foram obtidos a tabela ANOVA, o cálculo dos efeitos, os coeficientes de regressão do modelo e o gráfico de Pareto para o tempo de 100 horas de reação, conforme ilustrado nas Tabelas 25 a 27 e na Figura 44.

**Tabela 25: Tabela ANOVA para os experimentos com 100 horas.**

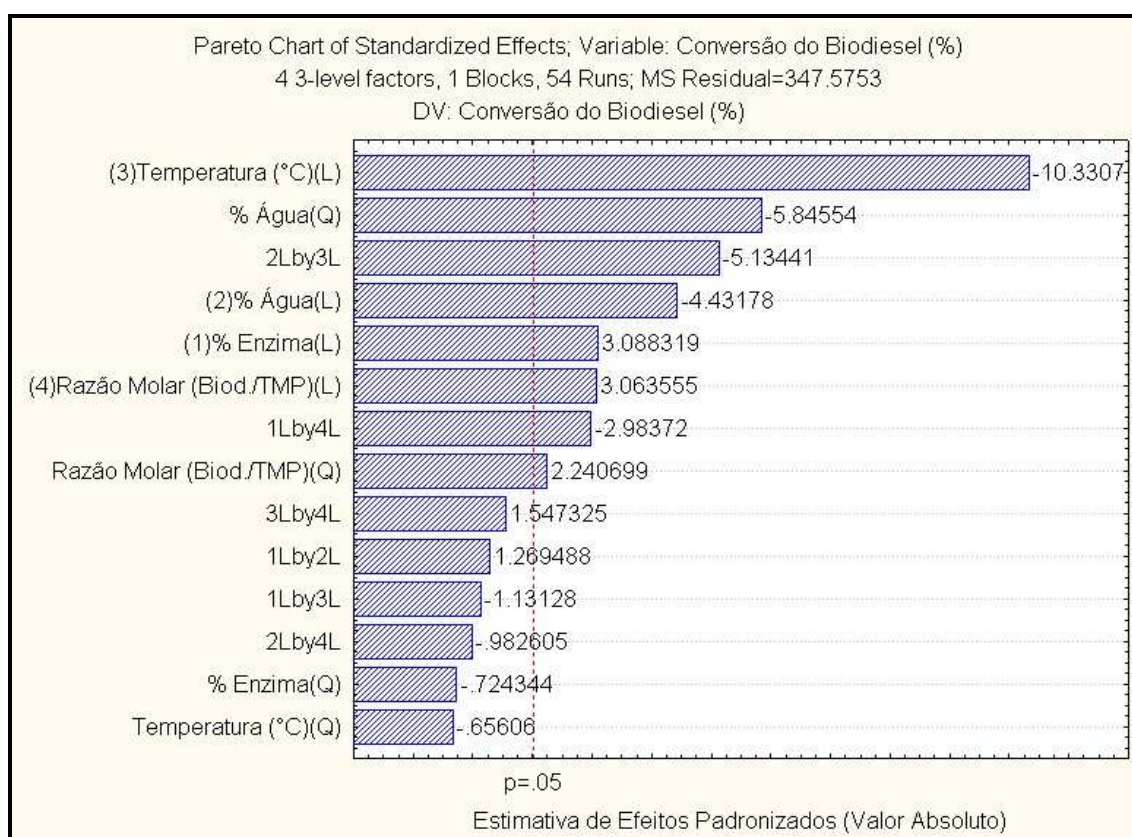
Fator	Soma Quadrática	Graus de Liberdade	Média Quadrática	F	p
(1)% Enzima L+Q	3497,44	2	1748,72	5,03119	0,011380
(2)% Água L+Q	18703,39	2	9351,70	26,90553	0,000000
(3)Temperatura (°C) L+Q	37243,72	2	18621,86	53,57648	0,000000
(4)Razão Molar (Biod./TMP) L+Q	5007,21	2	2503,60	7,20305	0,002176
1*2	560,15	1	560,15	1,61160	0,211790
1*3	444,82	1	444,82	1,27979	0,264847
1*4	3094,32	1	3094,32	8,90258	0,004894
2*3	9162,83	1	9162,83	26,36215	0,000008
2*4	335,59	1	335,59	0,96551	0,331858
3*4	832,17	1	832,17	2,39421	0,129862
Erro Puro	13555,44	39	347,58		
Soma Quadrática Total	89989,02	53			

**Tabela 26: Efeitos para os experimentos com 100 horas.**

Fator	Efeito	Erro Padrão	t(39)	p	-95.% Limite de Cnf	+95.% Limite de Cnf	Coef.	Erro Padrão Coef.	-95.% Limite de Cnf	+95.% Limite de Cnf
(3)Temperatura (°C)(L)	-64,1994	6,214457	-10,3307	0,000000	-76,7694	-51,6295	-32,0997	3,107228	-38,3847	-25,8148
Média/Intercepção	56,7161	2,537041	22,3552	0,000000	51,5845	61,8478	56,7161	2,537041	51,5845	61,8478
2L X 3L	-40,3602	7,860735	-5,1344	0,000008	-56,2601	-24,4604	-20,1801	3,930368	-28,1300	-12,2302
% Água(Q)	-31,4600	5,381878	-5,8455	0,000001	-42,3459	-20,5741	-15,7300	2,690939	-21,1729	-10,2871
(2)% Água(L)	-27,5411	6,214457	-4,4318	0,000074	-40,1110	-14,9712	-13,7706	3,107228	-20,0555	-7,4856
1L X 4L	-23,4542	7,860735	-2,9837	0,004894	-39,3541	-7,5544	-11,7271	3,930368	-19,6770	-3,7772
(1)% Enzima(L)	19,1922	6,214457	3,0883	0,003700	6,6223	31,7621	9,5961	3,107228	3,3111	15,8811
(4)Razão Molar (Biod./TMP)(L)	19,0383	6,214457	3,0636	0,003954	6,4684	31,6083	9,5192	3,107228	3,2342	15,8041
3L X 4L	12,1631	7,860735	1,5473	0,129862	-3,7367	28,0629	6,0816	3,930368	-1,8684	14,0315
Razão Molar (Biod./TMP)(Q)	12,0592	5,381878	2,2407	0,030814	1,1733	22,9450	6,0296	2,690939	0,5866	11,4725
1L X 2L	9,9791	7,860735	1,2695	0,211790	-5,9207	25,8789	4,9896	3,930368	-2,9604	12,9395
1L X 3L	-8,8927	7,860735	-1,1313	0,264847	-24,7925	7,0072	-4,4463	3,930368	-12,3963	3,5036
2L X 4L	-7,7240	7,860735	-0,9826	0,331858	-23,6238	8,1758	-3,8620	3,930368	-11,8119	4,0879
% Enzima(Q)	-3,8983	5,381878	-0,7243	0,473178	-14,7842	6,9875	-1,9492	2,690939	-7,3921	3,4938
Temperatura (°C)(Q)	-3,5308	5,381878	-0,6561	0,515638	-14,4167	7,3550	-1,7654	2,690939	-7,2084	3,6775

**Tabela 27: Coeficientes de regressão para os experimentos com 100 horas.**

Fator	Coeficientes de Regressão	Erro Padrão	t(39)	p	-95.% Limite de Cnf	+95.% Limite de Cnf
Média/Intercepção	38,8294	7,611124	5,1017	0,000009	23,4345	54,2244
(3)Temperatura (°C)(L)	-32,0997	3,107228	-10,3307	0,000000	-38,3847	-25,8148
% Água(Q)	31,4600	5,381878	5,8455	0,000001	20,5741	42,3459
2L X 3L	-20,1801	3,930368	-5,1344	0,000008	-28,1300	-12,2302
(2)% Água(L)	-13,7706	3,107228	-4,4318	0,000074	-20,0555	-7,4856
Razão Molar (Biod./TMP)(Q)	-12,0592	5,381878	-2,2407	0,030814	-22,9450	-1,1733
1L X 4L	-11,7271	3,930368	-2,9837	0,004894	-19,6770	-3,7772
(1)% Enzima(L)	9,5961	3,107228	3,0883	0,003700	3,3111	15,8811
(4)Razão Molar (Biod./TMP)(L)	9,5192	3,107228	3,0636	0,003954	3,2342	15,8041
3L X 4L	6,0816	3,930368	1,5473	0,129862	-1,8684	14,0315
1L X 2L	4,9896	3,930368	1,2695	0,211790	-2,9604	12,9395
1L X 3L	-4,4463	3,930368	-1,1313	0,264847	-12,3963	3,5036
% Enzima(Q)	3,8983	5,381878	0,7243	0,473178	-6,9875	14,7842
2L X 4L	-3,8620	3,930368	-0,9826	0,331858	-11,8119	4,0879
Temperatura (°C)(Q)	3,5308	5,381878	0,6561	0,515638	-7,3550	14,4167



**Figura 44: Gráfico de Pareto para os experimentos com 100 horas.**

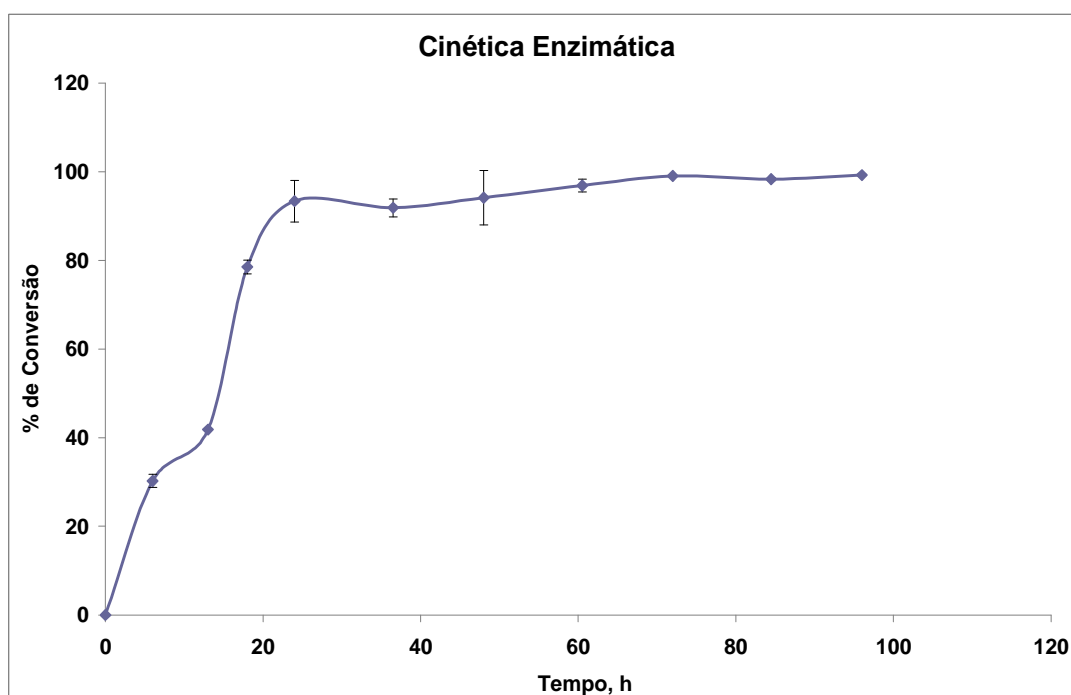
Da mesma forma que no planejamento anterior (72 horas), a variável temperatura foi a que apresentou maior efeito estatístico sobre o rendimento da reação estudada. Em média, um aumento na temperatura do nível inferior (40°C) para



o nível superior (50°C), provocou uma redução de aproximadamente 64% na conversão. Isto de certa forma já era esperado, uma vez que em temperaturas e tempos maiores, o catalisador (enzima) pode ter a sua atividade ainda mais reduzida. Em seguida, para 100 horas de reação, vêm as variáveis teor de água e a interação entre as variáveis temperatura e teor de água.

De forma geral, pôde-se observar que os rendimentos das reações com 100 horas foram ligeiramente superiores aos das reações com 72 horas, com a variável temperatura sendo a mais importante.

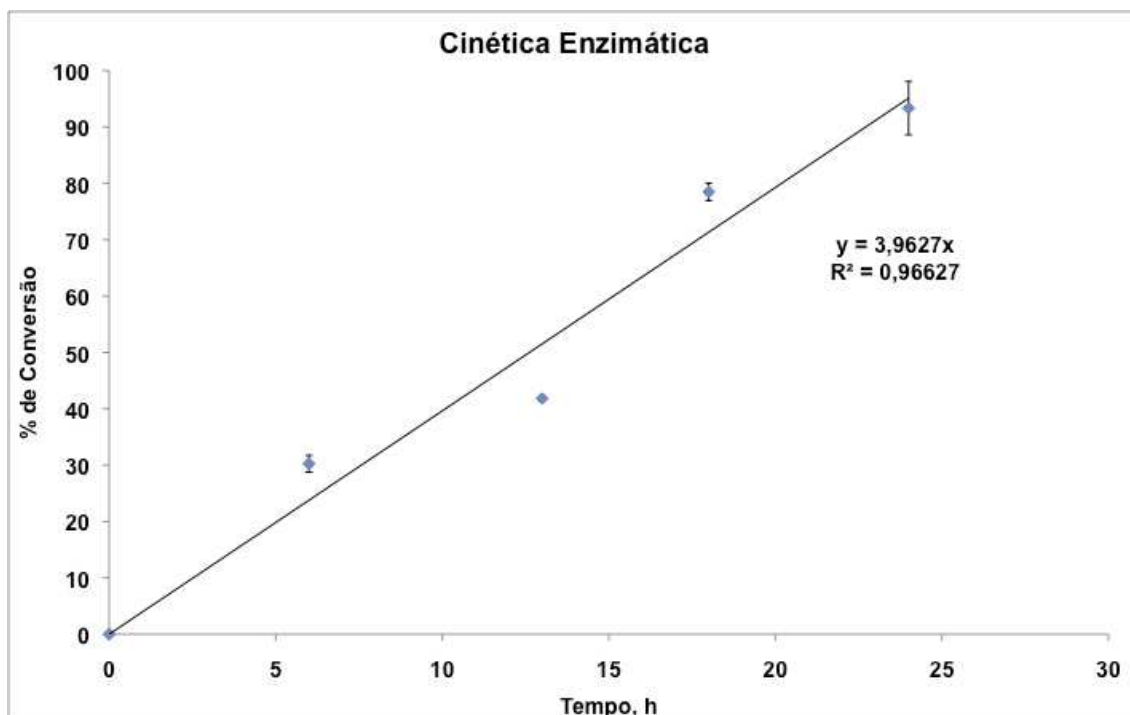
Desta maneira, escolheu-se a reação de maior rendimento nos dois planejamentos (19 e 46) para se realizar um acompanhamento cinético. A reação 19 foi executada em duplicata por 96 horas, com alíquotas sendo retiradas nos tempos 6; 13; 18; 24; 36,5; 48; 60,5; 72; 84,5 e 96 horas, para determinação das conversões através de análise em HPLC. Os resultados podem ser vistos na Figura 45.



**Figura 45: Evolução da conversão da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C<sub>água</sub>=1,0%, C<sub>enzima</sub>=4,0%) ao longo do tempo.**

Como se pode observar, a reação atinge o estado de equilíbrio em 24 horas. Procedeu-se a determinação da taxa de conversão do ricinoleato de metila neste intervalo, no qual esta pode ser interpretada como constante. O resultado pode ser visto na Figura 46.





**Figura 46: Determinação da taxa de conversão da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C<sub>água</sub>=1,0%, C<sub>enzima</sub>=4,0%) ao longo do tempo.**

Assim, a taxa média (e aproximadamente constante) de conversão do ricinoleato de metila em biolubrificantes nas condições estudadas foi de  $3,96\text{h}^{-1}$  (para uma quantidade inicial de 100g), com o tempo ótimo para a reação sendo atingido em 24 horas (conversão aproximadamente 100%).

A determinação da taxa da reação estudada é essencial para futuras otimizações desta rota sintética em escalas piloto e comercial, em variadas condições operacionais (GUNSTONE e PADLEY, 1997). Neste sentido, estimativas distintas baseadas em vários mecanismos podem ser realizadas, como, por exemplo, a que se baseia num modelo de pseudo-primeira ordem, descrita no Anexo 1. Mas um maior número de reações é necessário para confirmar este mecanismo.

#### **6.4 Síntese e Caracterização das Estabilidades Oxidativa e Térmica do Biolubrificante**

As próximas etapas descritas neste trabalho foram realizadas na Universidade Estadual de Iowa, EUA, com o objetivo de se complementar os estudos sobre biolubrificantes, iniciados pelo autor, na UFRJ, ainda no seu período de dissertação de mestrado, e estendidos nesta tese de doutorado, no tocante às estabilidades oxidativa

e térmica destes compostos, propriedades identificadas como críticas no desenvolvimento de formulações de biolubrificantes para aplicações no mercado consumidor. Para tanto, fizeram-se necessárias as sínteses por catálise química de compostos biolubrificantes (incluindo alguns precursores), com o objetivo de se avaliar as propriedades desejadas. Estas avaliações podem perfeitamente ser realizadas com produtos obtidos por via enzimática, o que não foi possível neste trabalho em função da demanda de uma quantidade maior de produto a ser sintetizado.

#### 6.4.1 Síntese e purificação do ricinoleato de metila (matéria-prima para síntese do biolubrificante)

Foram preparadas cinco bateladas de ricinoleato de metila a partir do óleo de mamona comercial. Os rendimentos das cinco bateladas estão listados na tabela 28. Estes rendimentos foram baseados na quantidade teórica de ricinoleato de metila produzido, considerando 100% de reação e de recuperação.

**Tabela 28: Rendimentos e grau de pureza das cinco bateladas de ricinoleato de metila.**

Reação #	1	2	3	4	5
Rendimento, %	89,1	86,4	88,6	86,2	86,4
Pureza (MeR), %*	81,98	84,46	77,56	87,75	79,27

\* Baseado em análises de GC.

As cinco bateladas de ricinoleato de metila foram combinadas, sendo calculada uma pureza média ponderada das mesmas. Este valor foi de 82,14%.

Com base nos resultados de GC, os quais mostraram que as cinco bateladas eram similares em termos de composição, as mesmas foram reunidas em um único recipiente com uma massa total de aproximadamente 350g. Deste total, foi retirada uma alíquota de 75g para se proceder a purificação por extração contracorrente com hexano e solução aquosa de metanol (90%).

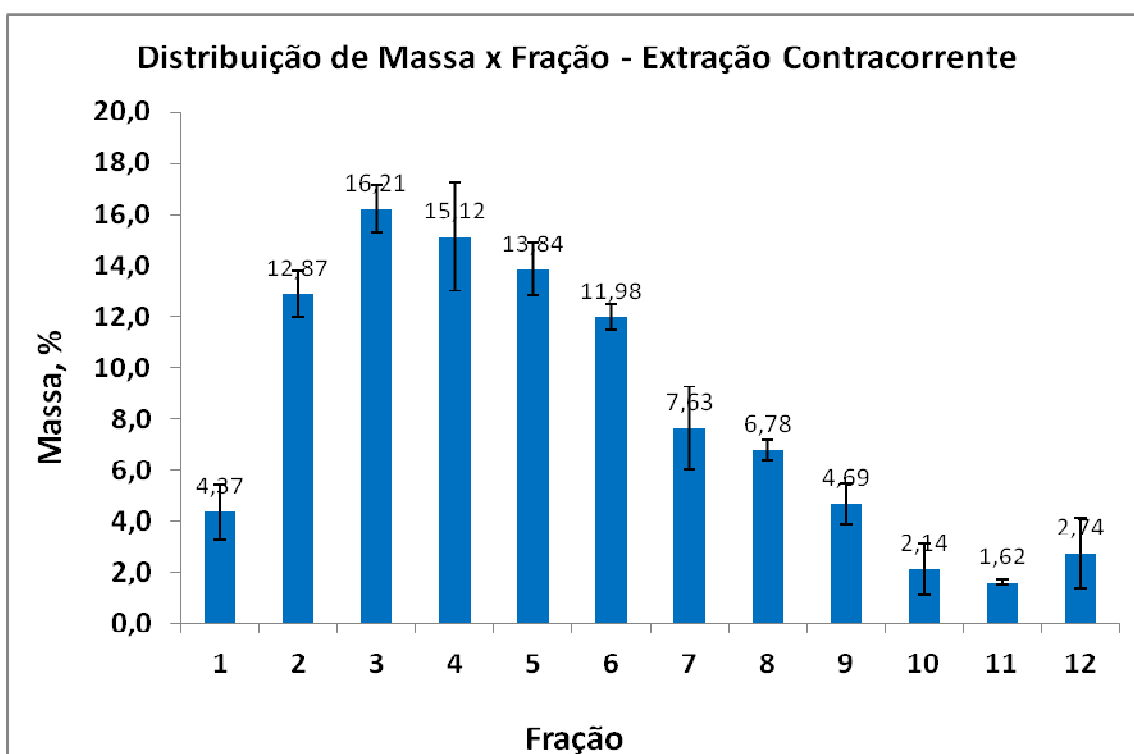
As 12 frações obtidas da extração foram analisadas no GC, e apresentaram uma pureza de 100%, exceto a fração número 1, estando de acordo com os resultados de trabalhos anteriores (YAO *et al*, 2010). A pureza desta fração foi de 82%, devido à presença de ácidos graxos livres como contaminantes, fato este confirmado através de análise de TLC. Estes ácidos graxos livres são prejudiciais à amostra de ricinoleato de

metila, pois reduzem as suas estabilidades oxidativa e hidrolítica, além de provocar corrosão.

A fração 1 da extração contracorrente foi tratada com  $\text{NaHCO}_3$ , água quente ( $60^\circ\text{C}$ ) e hexano, para remoção dos ácidos graxos livres. Após este procedimento, foi realizada outra análise de TLC, a qual confirmou o desaparecimento destes ácidos. A presença destes ácidos graxos livres na fração número 1 ocorreu devido à umidade presente no catalisador metóxido de sódio utilizado nas reações de transesterificação entre óleo de mamona e metanol. Percebeu-se que estes ácidos se concentravam no fundo do recipiente de coleta.

A extração contra-corrente foi realizada mais quatro vezes, com amostras de 75g de ricinoleato de metila. Os ácidos graxos livres não foram detectados nestas extrações, devido ao fato de ter sido evitada a coleta de material do fundo do recipiente.

Foram calculados a massa média e o desvio padrão de cada fração, conforme pode ser visto na Figura 47. Foram descartados os dados da primeira batelada, considerados “outliers”.



**Figura 47: Distribuição de massa média do ricinoleato de metila nas 12 frações.**

As frações intermediárias apresentaram uma maior recuperação do ricinoleato de metila devido à menor saturação da fase hexano.

#### 6.4.2 Síntese e purificação do 12-acetilricinoleato de metila (12Ac)

A síntese do produto 12Ac foi decidida após análise da sua estrutura molecular, a qual o caracteriza como um potencial biolubrificante. Este composto, conforme visto na Figura 18, apresenta uma ramificação no carbono 12, a qual é benéfica para a estabilidade oxidativa da molécula, de acordo com o explicado na seção 2.4.3.1 (Estabilidade Térmica e Oxidativa).

O produto 12Ac foi obtido a partir do ricinoleato de metila previamente sintetizado. Após 3 horas de reação, a conversão foi de aproximadamente 90%. O produto foi analisado através de GC, apresentando uma pureza de 88,58%, sendo o restante composto pelo ricinoleato de metila não reagido. Após a etapa de extração, o rendimento total diminuiu para 79,07%.

Trabalhos anteriores (YAO *et al*, 2010) purificaram este produto por meio do uso de cromatografia por coluna. No entanto, em função da necessidade de grandes quantidades presente neste trabalho, a primeira tentativa de purificação do 12Ac foi realizada através do emprego de um método de extração contracorrente similar ao empregado na prévia purificação do ricinoleato de metila, utilizando-se hexano e uma solução aquosa de metanol (90%) (BERDEAUX *et al*, 1997). O objetivo desta purificação consistia em se separar o ricinoleato de metila residual (mais polar) do 12Ac (menos polar). Após análises de GC, confirmou-se a pureza de 100% do 12Ac purificado, após doze etapas de extração com hexano e metanol. No entanto, o rendimento deste procedimento foi de apenas 23,84%.

Uma segunda tentativa do método de extração contracorrente foi realizado com uma amostra de 1,06g do produto 12Ac, utilizando-se hexano e uma solução aquosa de metanol (89%). A diferença básica desta nova extração consistiu, além do aumento da polaridade da solução de metanol (maior teor de água), na análise por GC da composição das fases hexano e metanol a cada etapa do processo. Os resultados das fases hexano e metanol desta separação são mostrados na Tabela 29. Em cada etapa foi adicionada uma solução pura de metanol.

**Tabela 29: Composição das fases para cada etapa da extração (a fase hexano da primeira separação foi conduzida para os funis de separação subsequentes).**

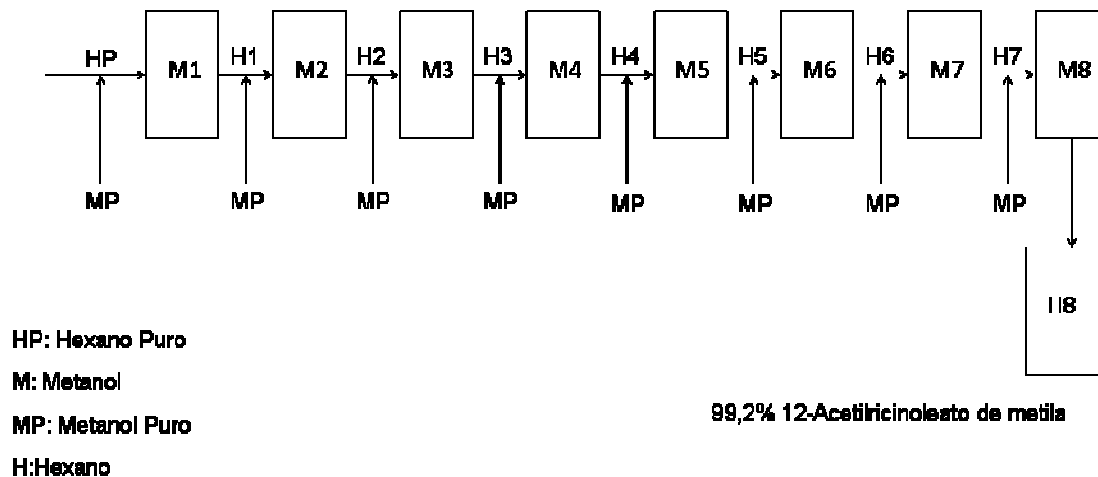
Etapa	0		1		2		3	
	12Ac	MeR	12Ac	MeR	12Ac	MeR	12Ac	MeR
Fase Hexano, %	88	12	87	13	93	7	100	0
Fase Metanol, %	57	43	-	-	-	-	-	-

Pode-se observar que, com apenas três etapas, atingiu-se a pureza de 100% do 12Ac. A fração metanol resultante da primeira etapa de extração (0) foi submetida a novas separações, empregando-se para cada etapa um volume puro de hexano. Os resultados deste tratamento são mostrados na Tabela 30.

**Tabela 30: Composição das fases para cada etapa da extração (a fase metanol da primeira separação foi conduzida para os funis de separação subsequentes).**

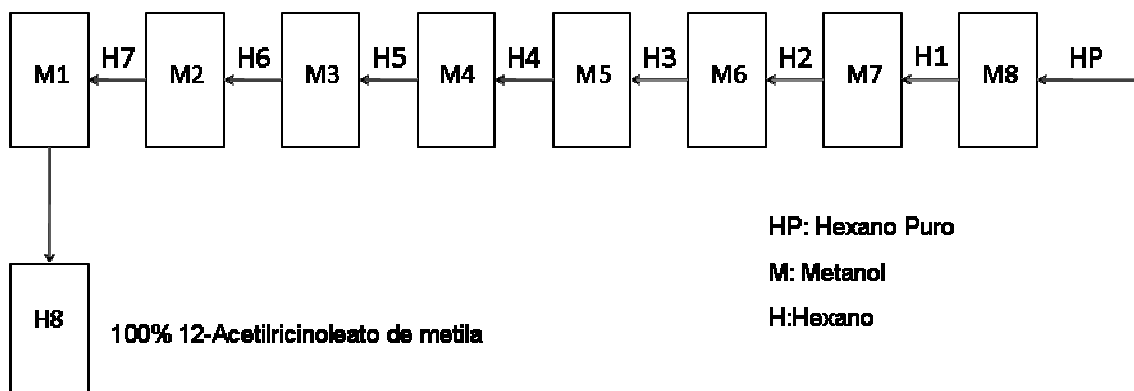
Etapa	0		1		2		3	
	12Ac	MeR	12Ac	MeR	12Ac	MeR	12Ac	MeR
Fase Hexano, %	88	12	76,5	23,5	73	27	87	13
Fase Metanol, %	57	43	-	-	-	-	-	-

Finalmente, o método de extração contracorrente foi conduzido para purificar todo o produto 12Ac restante (aproximadamente 50g), conforme ilustrado na Figura 48. Nesta ocasião, foram necessárias oito etapas de extração, ao invés das 12 etapas utilizadas na primeira separação, para se alcançar um grau de pureza de 99,2% do 12Ac. A diferença entre as três etapas obtidas com a amostra reduzida e as oito etapas com a amostra maior se justificou, de acordo com o resultado das análises de GC, devido à maior concentração das amostras na separação com oito etapas. Seguramente, adotando-se a mesma concentração nas amostras da separação em três etapas, a mesma também necessitaria de oito etapas para que fosse atingido um elevado grau de pureza do 12Ac. O rendimento de produto 12Ac purificado foi de 48,21%, maior do que o obtido na primeira tentativa (12 etapas). Este maior rendimento ocorreu devido ao aumento de escala do processo, ao menor número de etapas de extração e ao aumento da polaridade da solução de metanol.



**Figura 48: Diagrama do método de extração contracorrente com as fases hexano.**

Com o objetivo de se aumentar o rendimento global do processo de extração, as oito fases metanólicas oriundas da extração anterior foram submetidas a uma nova extração contracorrente, utilizando uma única fase hexano puro, conforme ilustrado na Figura 49.



**Figura 49: Diagrama do método de extração contracorrente com as fases metanol.**

Após estas oito etapas, foi atingida uma pureza de 12Ac de 100%, com um rendimento de 27,17%, o qual foi somado ao rendimento da primeira extração, resultando em um rendimento de recuperação de 12Ac de 75,38%.

As oito fases metanólicas foram submetidas a uma terceira extração contracorrente, utilizando novamente uma fase hexano puro. A pureza final foi de 100% de 12Ac e o rendimento desta extração foi de 7,00%. Desta forma, o rendimento total do processo de extração contracorrente foi de 82,38%.

### 6.4.3 Oxidação de superfície

Conforme descrito no capítulo 2 (Lubrificantes e Biolubrificantes), a metodologia da oxidação de superfície se baseia na adsorção do éster orgânico na superfície da sílica gel na forma de uma monocamada. Desta forma, o composto fica mais exposto ao oxigênio, tornando mais rápido e mais fácil a medição da sua estabilidade oxidativa ao longo do tempo, através do IP (índice de peróxido) e de cromatografia gasosa (GC).

Uma comparação de taxas de oxidação requer que todas as amostras apresentem níveis muito baixos de antioxidantes. O óleo de mamona (grau farmacêutico) utilizado neste trabalho não continha níveis detectáveis de tocoferóis (de acordo com o método descrito na seção 5.13), apesar de outros óleos de mamona, grau farmacêutico, conterem os mesmos. A presença de antioxidantes durante experimentos de oxidação de superfície, em geral, resulta em um atraso no declínio do teor de linoleato de metila não oxidado (MeLi) (WU *et al*, 1977).

Com base na literatura (TEKIN e HAMMOND, 2004), foi realizada uma análise preliminar de oxidação de superfície a 60°C, utilizando o ricinoleato de metila puro. Os resultados de IP estão mostrados na Tabela 31.

**Tabela 31: Valores de IP das amostras oxidadas ao longo do tempo.**

	Dia				
	0	1	2	5	10
Índice de Peróxido, meq/kg	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00

Como pode ser observado, não ocorreu modificação no IP da amostra contendo MeR com o tempo. Isto deve à resistência à oxidação deste composto nas condições testadas.

Foi realizada outra análise preliminar de oxidação de superfície com uma amostra de linoleato de metila (MeLi) também a 60°C. A quantidade de linoleato de metila foi reduzida para 1,527g, com o objetivo de se utilizar menos amostra e de se propiciar a formação de uma monocamada deste composto na superfície da sílica. Os valores de IP e a quantidade de composto não oxidado estão apresentados na Tabela 32.

**Tabela 32: IP e teor de linoleato de metila não oxidado das amostras oxidadas ao longo do tempo.**

	Dia		
	0	1	2
IP, meq/kg	0,00	268,69	358,52
MeLi não oxidado, %	100,00	5,22	3,25

Devido à rápida taxa de oxidação, em virtude do fato da molécula do linoleato de metila apresentar duas duplas ligações, decidiu-se interromper este teste.

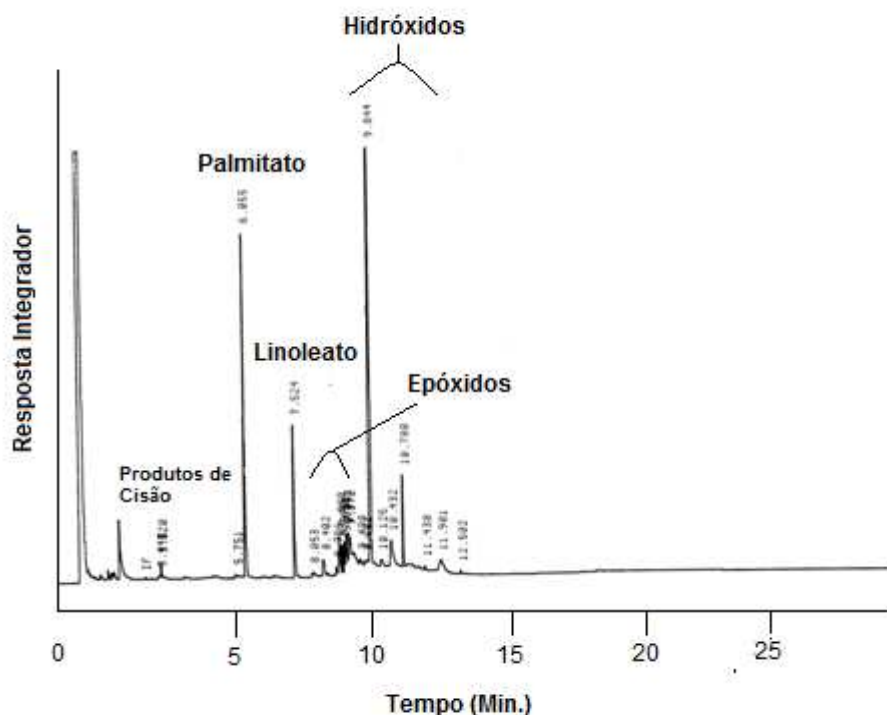
Com o objetivo de se remover os metais de transição V (Vanádio) e Ti (Titânio) presentes na sílica gel, os quais são responsáveis pela formação de epóxidos durante a oxidação, os quais interferem na correta análise dos resultados da metodologia, e de se maximizar a formação de produtos de cisão (responsáveis pela cinética de 1ª ordem da oxidação), foi executada uma purificação desta sílica, de acordo com o procedimento descrito no capítulo 5 (Metodologia) (PORTER *et al*, 1971). Em seguida, utilizou-se esta sílica purificada para a realização de outra análise de oxidação de superfície com MeLi, mais uma vez como teste preliminar. A análise foi realizada sem duplicatas, e as quantidades de MeLi e sílica gel foram reduzidas para 513mg e 8g, respectivamente. Os valores de IP e a quantidade de composto não oxidado estão apresentados na Tabela 33.

**Tabela 33: IP e teor de linoleato de metila não oxidado das amostras oxidadas ao longo do tempo, empregando-se sílica gel purificada.**

	Dia		
	0	1	2
IP, meq/kg	0,00	311,89	311,89
MeLi não oxidado, %	100,00	2,42	0,35

Mais uma vez, devido à rápida taxa de oxidação, decidiu-se interromper esta análise. A primeira amostra coletada foi analisada através de espectrometria de massa (GC-MS). Como se pode observar na Figura 50, o produto referente ao primeiro dia de oxidação do MeLi foi composto por epóxidos, hidroperóxidos, hidróxidos e produtos de cisão, em conformidade com os resultados obtidos por TEKIN e HAMMOND, 2004. O tratamento da sílica gel aparentemente obteve êxito, uma vez que reduziu o teor de epóxidos e aumentou a quantidade de produtos de cisão.





**Figura 50: Cromatograma do produto referente ao primeiro dia da oxidação do MeLi através de oxidação de superfície.**

Em função da lenta taxa de oxidação observada no teste preliminar contendo apenas MeR, e das elevadas taxas observadas nos testes contendo apenas MeLi, formulou-se a hipótese de que a oxidação destes compostos, nas condições do ensaio de oxidação de superfície, seguiria um mecanismo via radicais livres. A presença destes radicais livres seria facilitada pelo MeLi, menos estável do que o MeR. Desta forma o MeLi serviria com uma fonte de radicais livres para iniciar o processo de oxidação dos outros compostos mais estáveis. Isto justificaria a lenta taxa de oxidação do MeR quando analisado isoladamente.

Com o objetivo de se analisar a estabilidade oxidativa do composto 12-acetilricinoleato de metila (12Ac) sintetizado e de confirmar a teoria sobre os radicais livres, e encerrada a etapa de ensaios preliminares de oxidação de superfície, resolveu-se proceder uma análise a 60°C com duas amostras: a primeira sendo uma mistura de ricinoleato de metila (MeR) e linoleato de metila (MeLi) em quantidades iguais, e a segunda consistindo em uma mistura de 12-acetilricinoleato de metila (12Ac) e MeLi em quantidades iguais, ambas contendo palmitato de metila como padrão interno, e sem réplicas. Além da confirmação da teoria dos radicais livres, estes experimentos permitiriam comparar a estabilidade oxidativa do 12Ac com o MeR. Os resultados podem ser vistos nas Figuras 51, 52, 53 e 54.

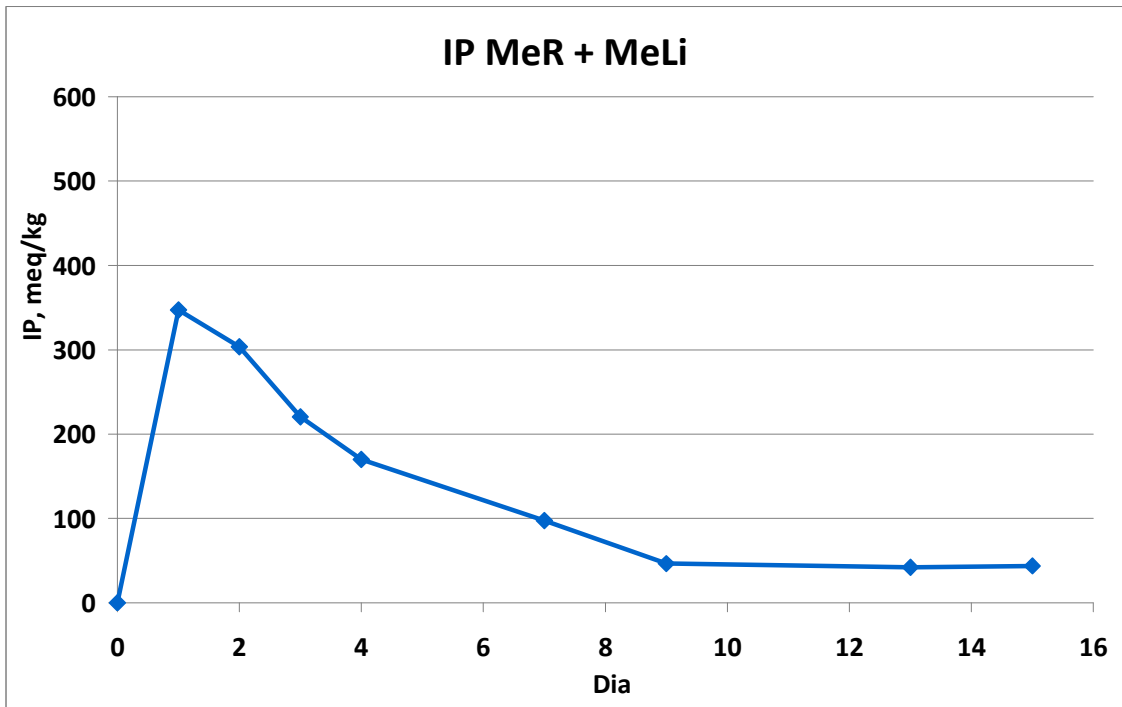


Figura 51: Valores de IP da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.

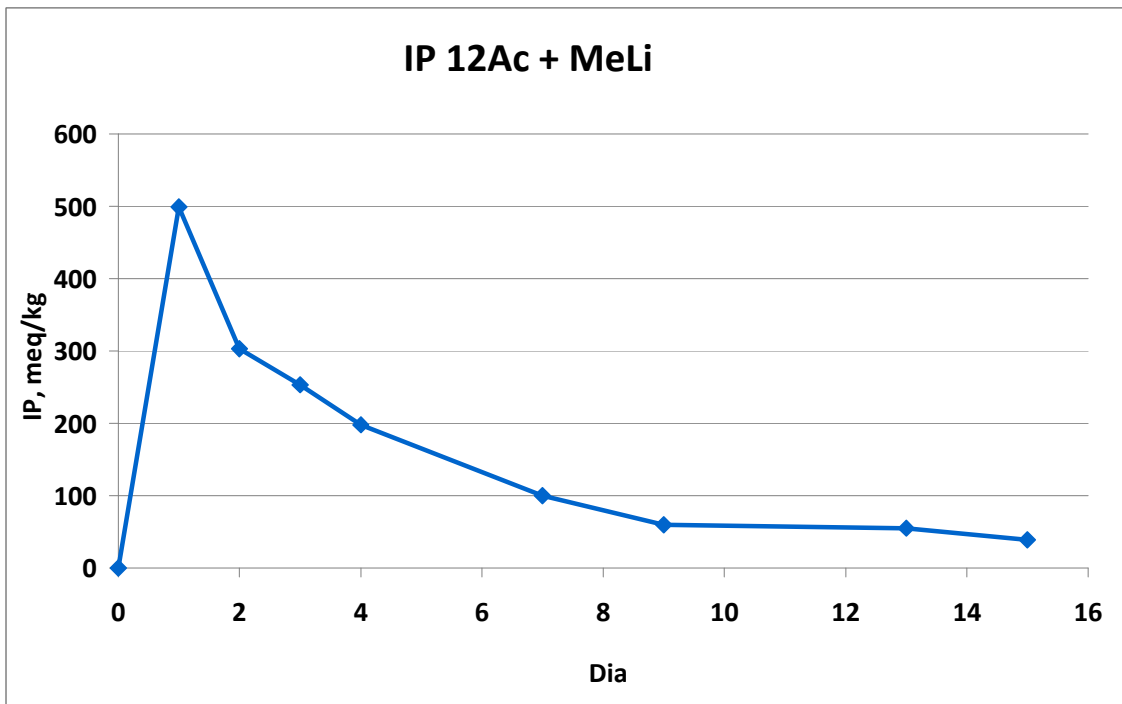


Figura 52: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.

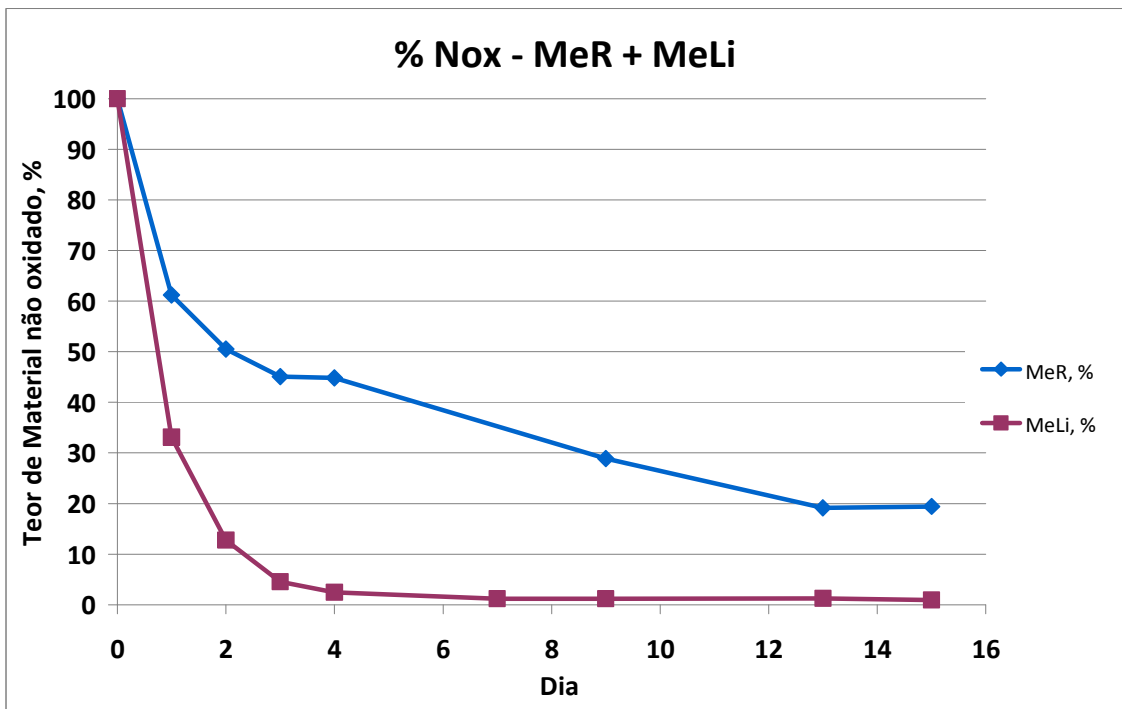


Figura 53: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.

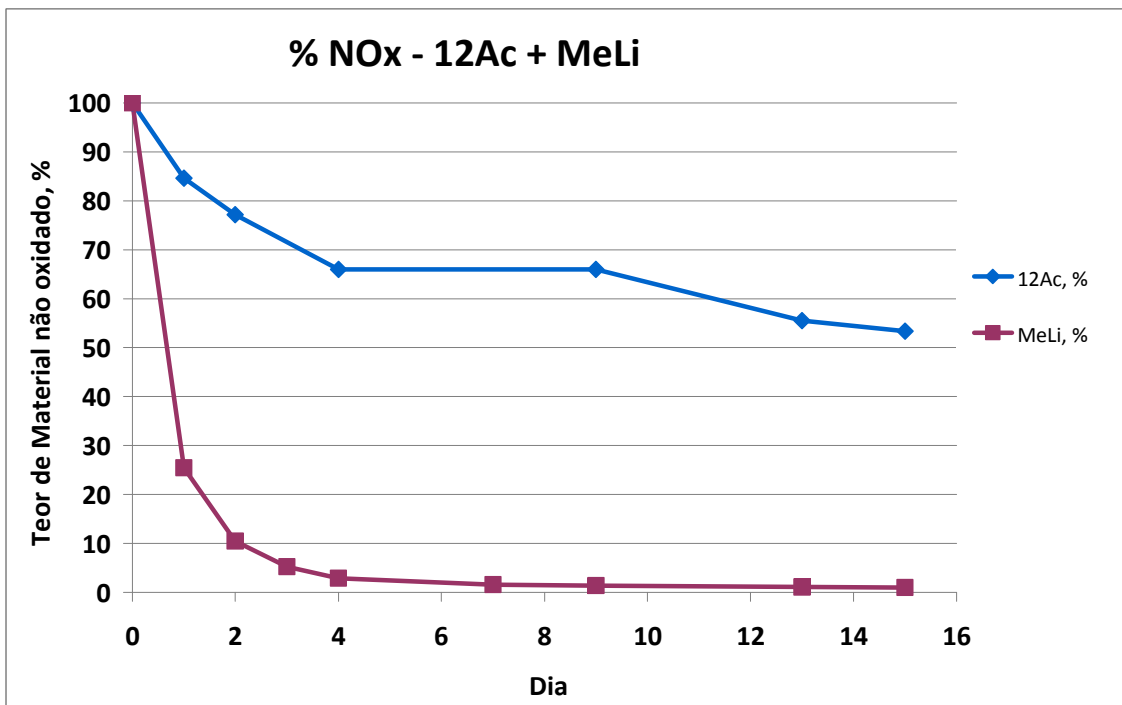


Figura 54: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.

Como se pode observar, os valores de IP da amostra MeR + MeLi são bem mais elevados do que os obtidos no teste preliminar contendo apenas MeR. Os valores de IP aumentam rapidamente, atingem um máximo em 1 dia, e, então, declinam lentamente. Este rápido crescimento dos valores de IP é conhecido como sendo dependente das quantidades dos vários metais de transição presentes na sílica gel (PORTER *et al*, 1972; KOPRUCUOGLU *et al*, 2011), e a oxidação de superfície parece seguir a equação para oxidação catalisada por metal (POKORNY, 1987):

$$\frac{d[\text{ROOH}]}{dt} = \frac{k_p [\text{RH}] k_i [\text{ROOH}][\text{M}]^{1/2}}{2k_t} \quad (\text{eq. 48})$$

onde: [RH] = concentração de éster insaturado (MeLi) (mol/cm<sup>3</sup>);

[ROOH] = concentração de hidroperóxido (mol/cm<sup>3</sup>);

[M] = concentração de metais de transição (mol/cm<sup>3</sup>);

k<sub>p</sub> = constante de propagação (s<sup>-1</sup>);

k<sub>i</sub> = constante de iniciação (s<sup>-1</sup>);

k<sub>t</sub> = constante de terminação (s<sup>-1</sup>).

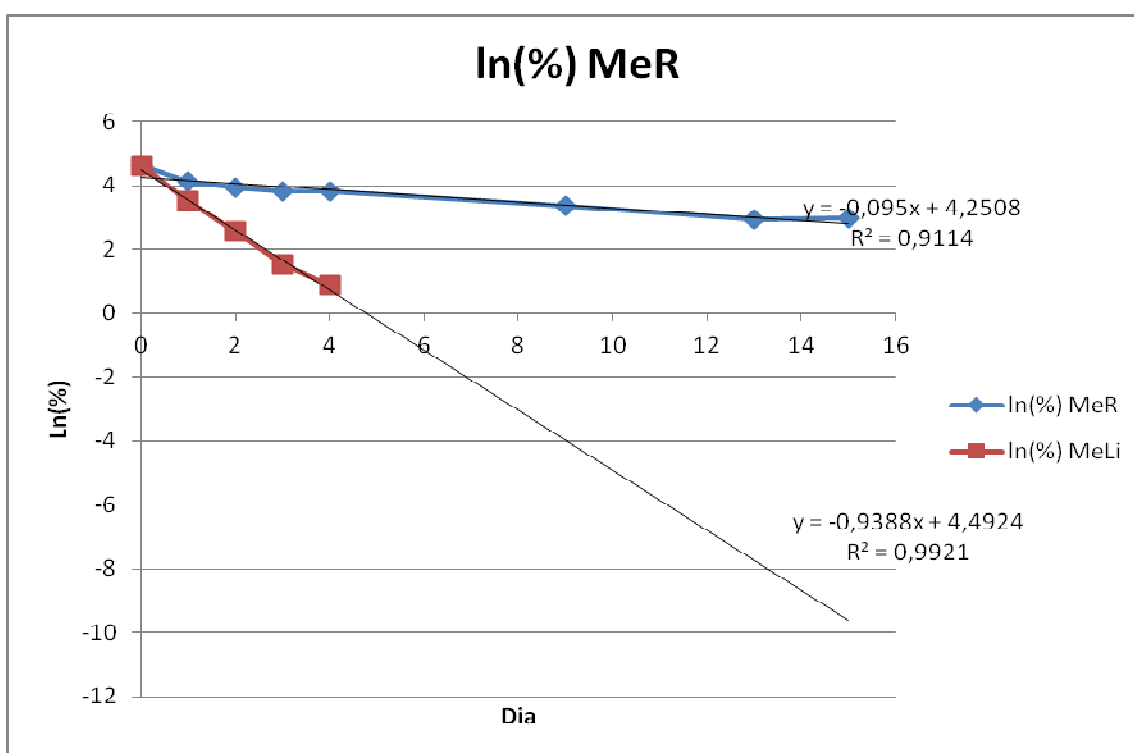
O índice de peróxido cresce rapidamente à medida que mais ROOH é formado, para, em seguida, se tornar lento e declinar devido à diminuição da concentração de MeLi (RH) em cerca de 20% da sua concentração original, tornando-se o fator limitante. O índice de peróxido diminui a uma taxa mais lenta (aproximadamente 1,5 a 2,8 meq/h) e o desaparecimento de RH segue uma cinética de primeira ordem. À medida que a concentração de RH se torna baixa e os radicais livres continuam a formar mais ROOH, aumenta a formação de produtos de cisão e polimerização, conforme verificado em trabalhos anteriores (TEKIN e HAMMOND, 2004; KOPRUCUOGLU *et al*, 2011). Em oxidação de superfície, as taxas de propagação e de formação de produtos de cisão e polimerização também podem ser limitadas pelas taxas de difusão na superfície da sílica.

A facilidade pela qual um átomo de hidrogênio, que se localiza em um CH<sub>2</sub> alfa a uma dupla ligação, está apto para deixar a molécula, depende da estrutura do éster metílico de ácido graxo (FAME). Em geral, é aceito que em um grupo CH<sub>2</sub>, situado entre duas duplas ligações, a perda do hidrogênio deste grupo é muito mais rápida do que a de um hidrogênio de outro grupo CH<sub>2</sub> adjacente a apenas uma dupla ligação (TEKIN e HAMMOND, 2004). A facilidade pela qual o hidrogênio é perdido determina a

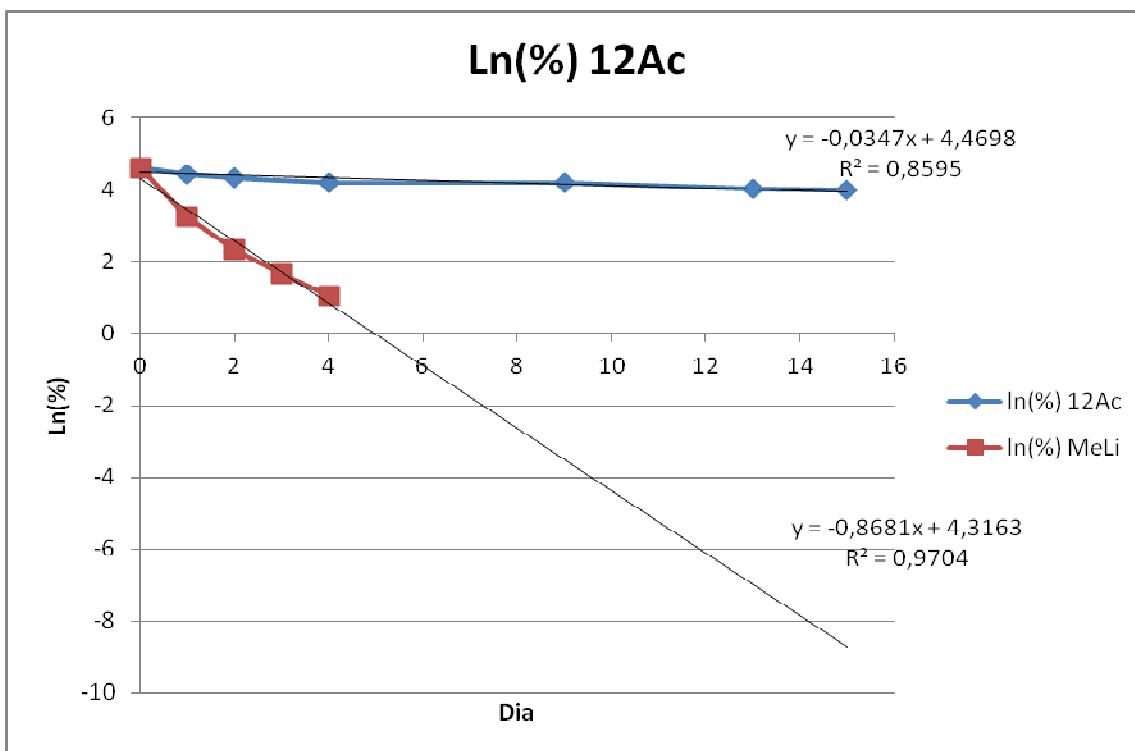
taxa pela qual o FAME desaparece, e, em oxidação de superfície, esta perda deve seguir uma cinética de primeira ordem.

A perda de um átomo de hidrogênio por um FAME é também bastante sensível à presença de traços de antioxidantes (TEKIN e HAMMOND, 2004). Na técnica de oxidação de superfície, se há a presença de uma pequena quantidade de antioxidante, a perda do hidrogênio do RH se tornará lenta, atingindo a sua taxa característica quando o teor deste antioxidante se tornar muito baixo.

Além disso, em ambas as amostras, a taxa de oxidação do MeLi foi maior do que a taxa do MeR e do 12Ac. Com o objetivo de se quantificar a taxa de oxidação dos três compostos envolvidos nos ensaios, realizou-se a determinação da cinética de oxidação de ambas as amostras através da construção de gráficos logarítmicos das mesmas, conforme ilustrado nas Figuras 55 e 56.



**Figura 55: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.**



**Figura 56: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C.**

A partir da determinação do coeficiente angular das retas que melhor se ajustaram aos dados das figuras anteriores, por meio de regressão linear, pôde-se calcular a taxa de oxidação de cada composto. Desta forma, a estabilidade relativa entre os compostos analisados pode ser vista na Tabela 34.

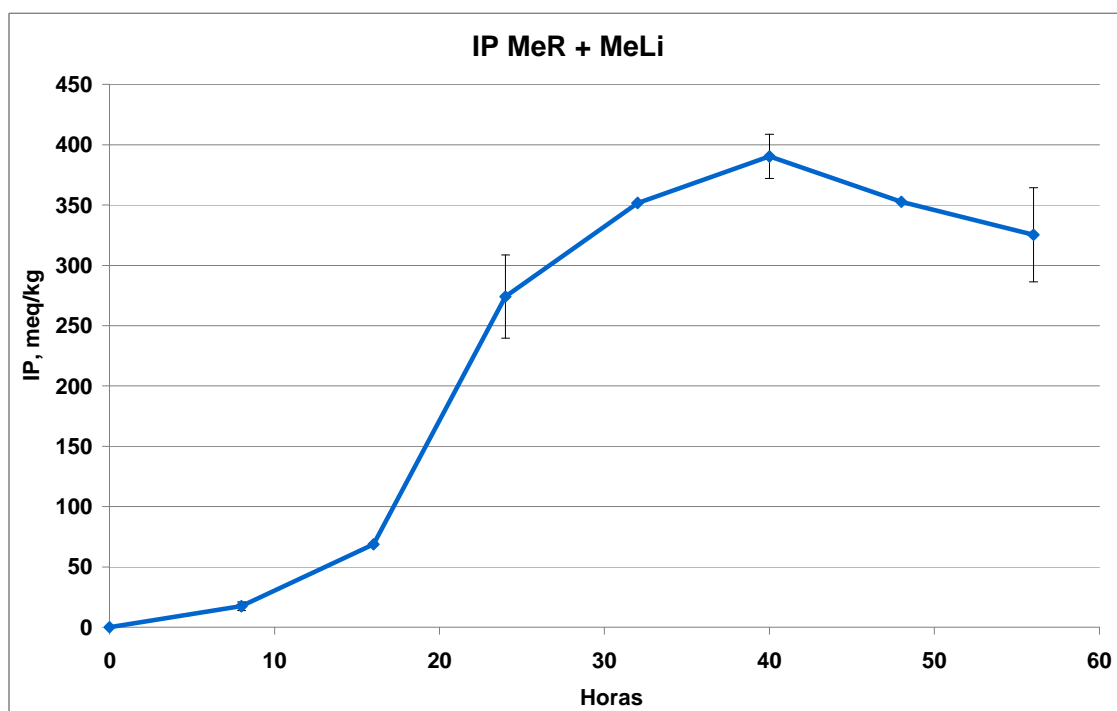
**Tabela 34: Estabilidade oxidativa relativa dos compostos MeLi e 12Ac.**

Composto	Estabilidade comparada ao MeR	Estabilidade comparada ao 12Ac
MeLi	9,88 vezes menor	25,02 vezes menor
12Ac	2,74 vezes maior	

Este resultado confirma a já esperada maior estabilidade do produto 12Ac, o qual se constitui em um potencial biolubrificante.

Em função de não se possuir resultados de teor de material não oxidado do teste preliminar contendo apenas MeR, não foi possível confirmar a teoria da necessidade da presença de radicais livres para a oxidação. No entanto, a realização de outros ensaios descritos neste trabalho irá discutir com mais profundidade esta questão.

Após observar que as oxidações dos compostos MeR, 12Ac e MeLi ocorreram fundamentalmente com maior intensidade nos dois primeiros dias, e com o objetivo de se obter dados mais consistentes, resolveu-se repetir a oxidação destes compostos na mesmas condições anteriores, porém em intervalos de tempo de 56 e 72 horas. Nesta ocasião as análises foram realizadas em duplicata, a fim de se possibilitar o tratamento estatístico. Os resultados podem ser vistos nas Figuras 57, 58, 59 e 60.



**Figura 57:** Valores de IP da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.

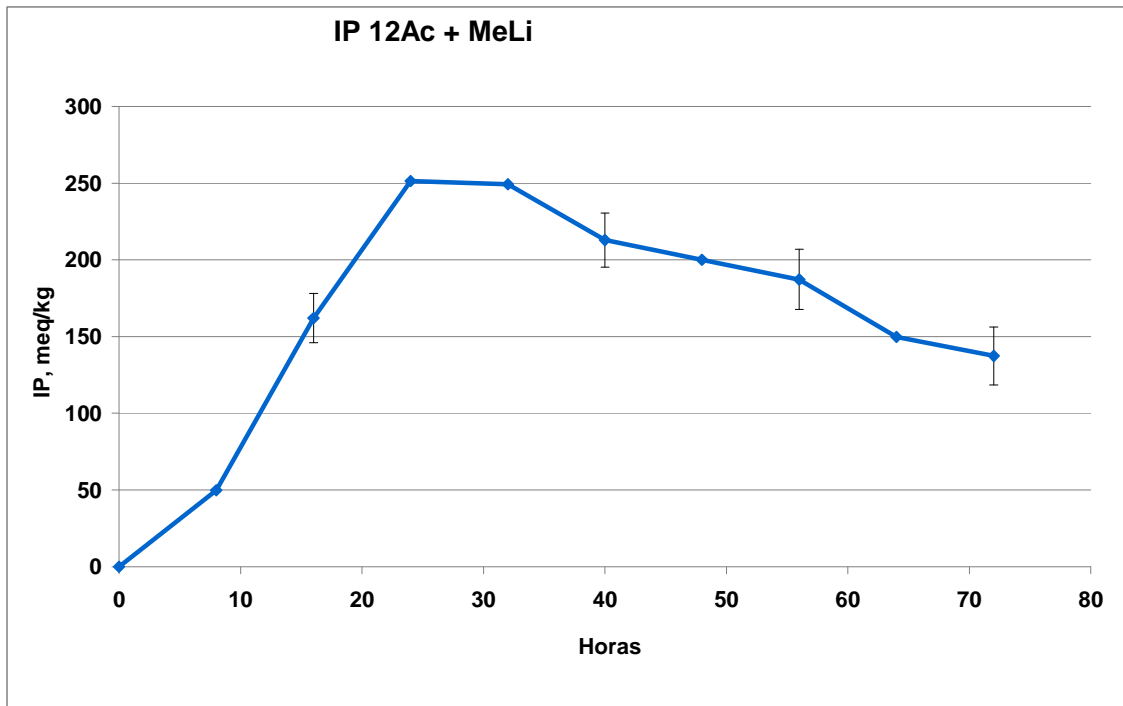


Figura 58: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.

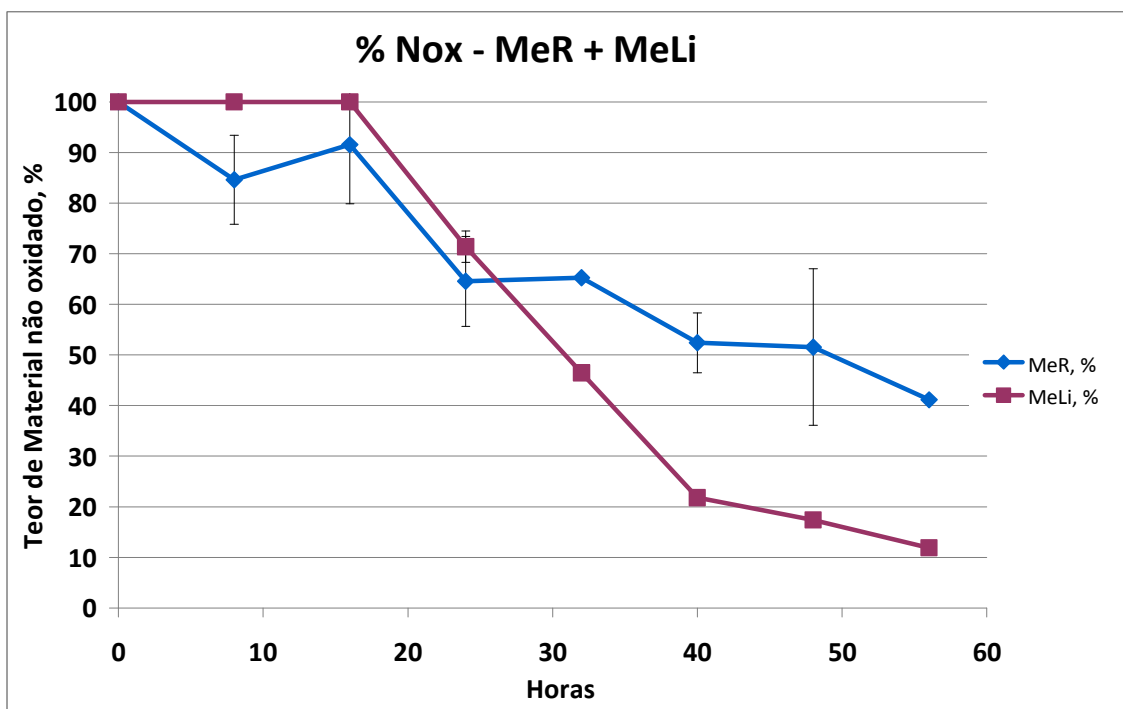
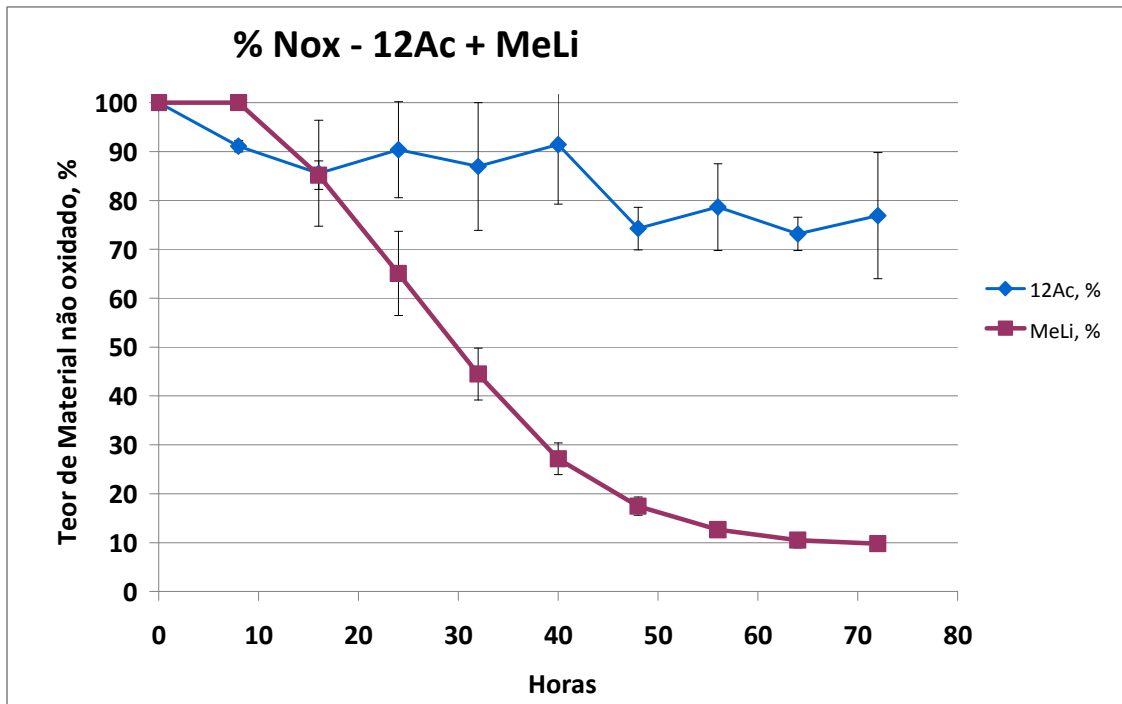


Figura 59: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.





**Figura 60: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.**

A diferença na duração dos ensaios (56 e 72 horas) se deveu à maior estabilidade do 12Ac, o qual necessitava um tempo maior para a coleta dos dados. Os resultados obtidos nos ensaios de IP e material não oxidado estão coerentes com os obtidos nos primeiros dois dias do ensaio anterior. Mais uma vez, os valores de IP da amostra MeR + MeLi são bem mais elevados do que os obtidos no teste preliminar contendo apenas MeR, podendo-se acompanhar claramente a elevação dos mesmos nas primeiras horas de oxidação. Além disso, em ambas as amostras, a taxa de oxidação do MeLi foi maior do que a taxa do MeR e do 12Ac. Mais uma vez, com o objetivo de se quantificar a taxa de oxidação dos três compostos envolvidos nos ensaios, realizou-se a determinação da cinética de oxidação de ambas as amostras através da construção de gráficos logarítmicos das mesmas, conforme ilustrado nas Figuras 61 e 62.

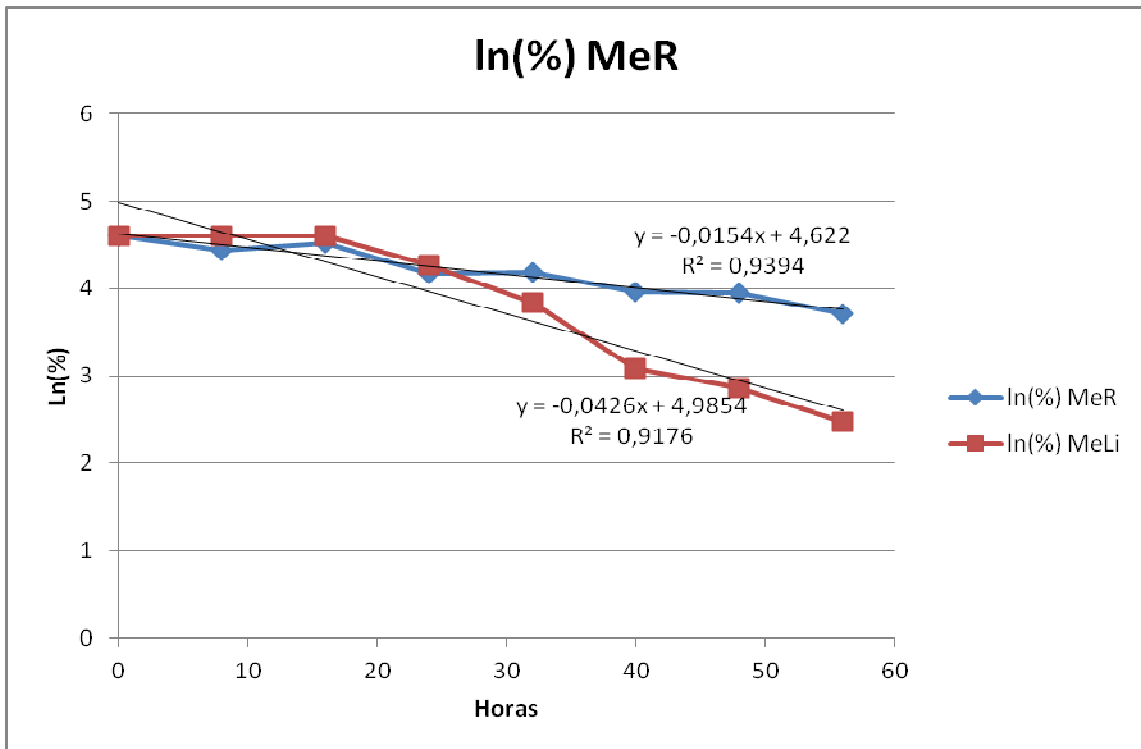


Figura 61: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 56 horas.

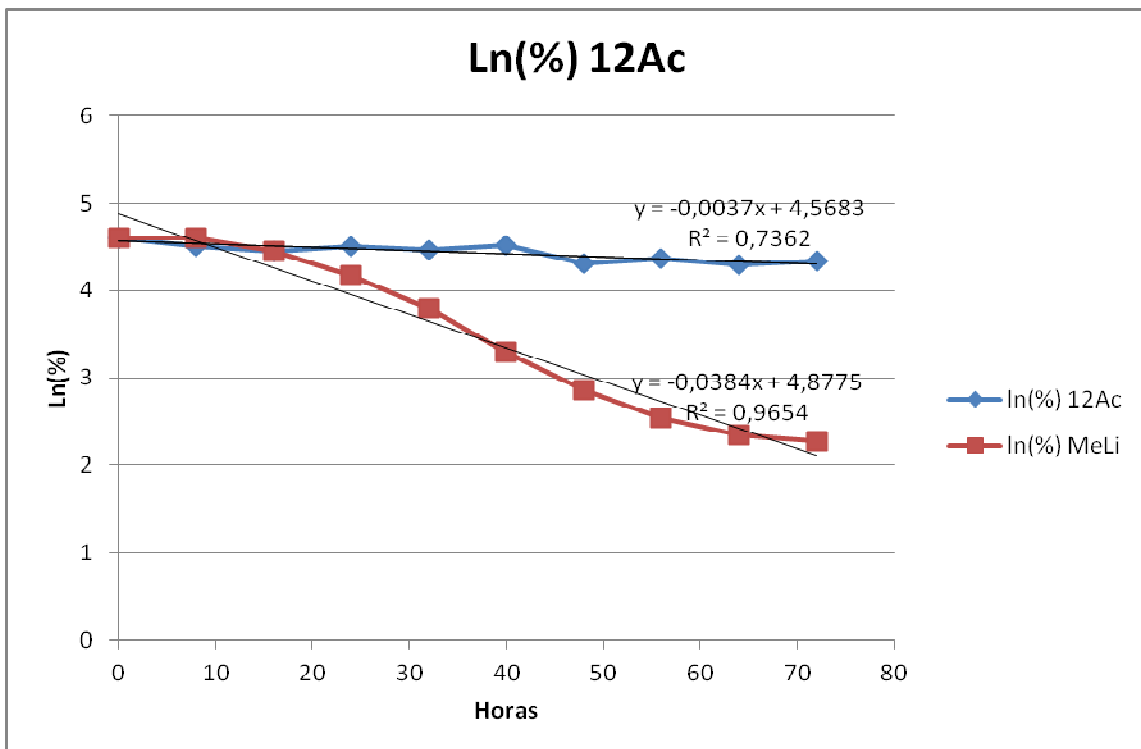


Figura 62: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo 12Ac + MeLi (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 72 horas.

A partir da determinação do coeficiente angular das retas que melhor se ajustaram aos dados das figuras anteriores, por meio de regressão linear, pôde-se calcular a taxa de oxidação de cada composto. Desta forma, a estabilidade relativa entre os compostos analisados pode ser vista na Tabela 35.

**Tabela 35: Estabilidade oxidativa relativa dos compostos MeLi e 12Ac.**

Composto	Estabilidade comparada ao MeR	Estabilidade comparada ao 12Ac
MeLi	2,75 ± 0,19 vezes menor	10,56 ± 2,59 vezes menor
12Ac	4,24 ± 0,76 vezes maior	

Estes resultados confirmaram a já esperada maior estabilidade do produto 12Ac, o qual se constitui em um potencial biolubrificante. A diferença observada em relação aos resultados obtidos no ensaio anterior (dias) se deve ao menor intervalo de tempo empregado neste ensaio e a utilização de diferentes bateladas de sílica gel, as quais podem variar no tocante à concentração e ao tipo de metais de transição contidos. Em função da realização de réplicas na realização deste ensaio, os resultados obtidos são estatisticamente mais confiáveis do que os do ensaio anterior (para um nível de confiança de 95%). Ainda assim, em termos de ordem de grandeza e comparação, ambos os ensaios forneceram resultados equivalentes.

O linoleato de metila é aproximadamente 10 vezes menos estável do que oleato de metila a 28°C (POKORNY, 1987; WU *et al*, 1977). Entretanto, autores que tentaram oxidar o oleato de metila (MeO) por oxidação de superfície a 60°C encontraram muito pouca oxidação (SLAWSON *et al*, 1973; WU *et al*, 1977).

Com o objetivo de se confirmar a hipótese da necessidade de uma fonte de radicais livres, resolveu-se proceder um ensaio de oxidação de superfície nas mesmas condições dos anteriores, sendo que ao invés de MeLi, foi adicionado oleato de metila (MeO), mais estável e menos propício a liberar radicais livres, em iguais quantidades juntamente com o MeR e o 12Ac. Mais uma vez foram analisadas duas amostras, contendo réplicas. Os resultados podem ser vistos nas figuras 63, 64, 65 e 66.

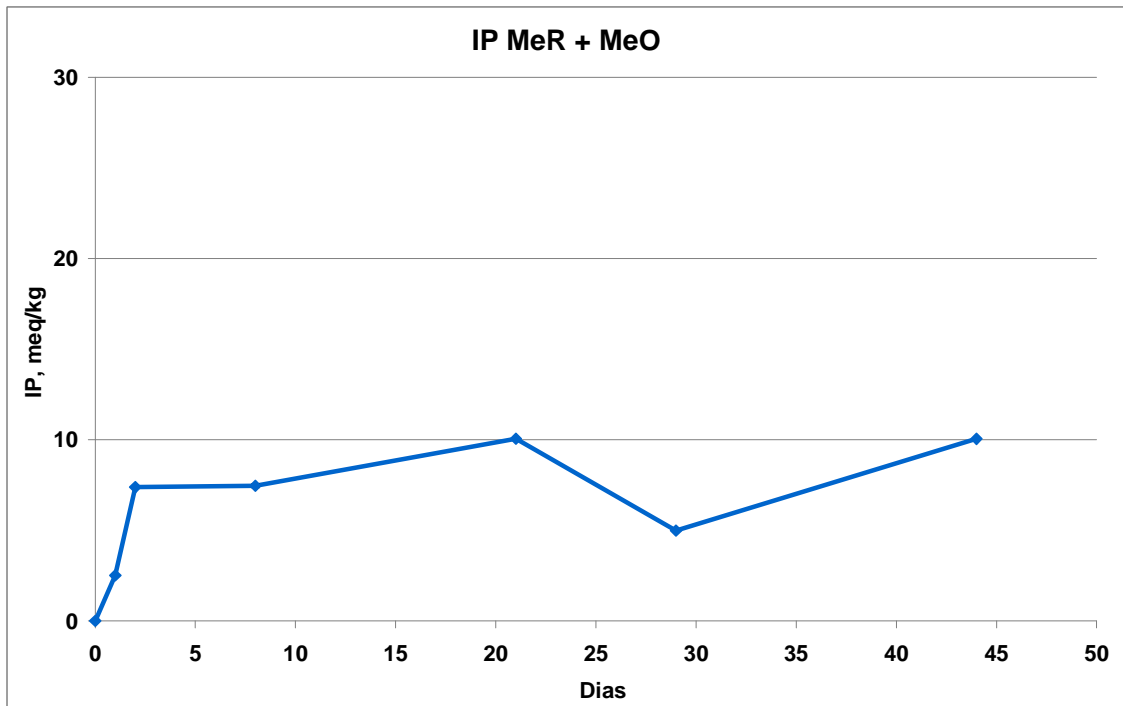


Figura 63: Valores de IP da amostra contendo MeR + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.

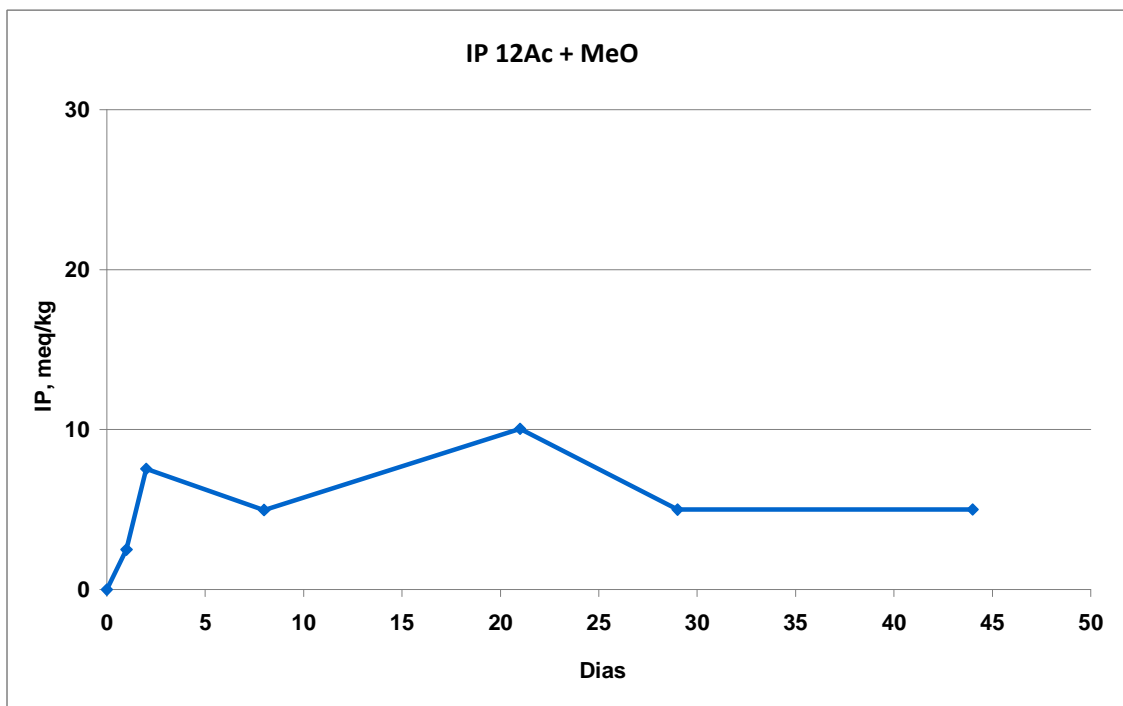


Figura 64: Valores de IP da amostra contendo 12Ac + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.

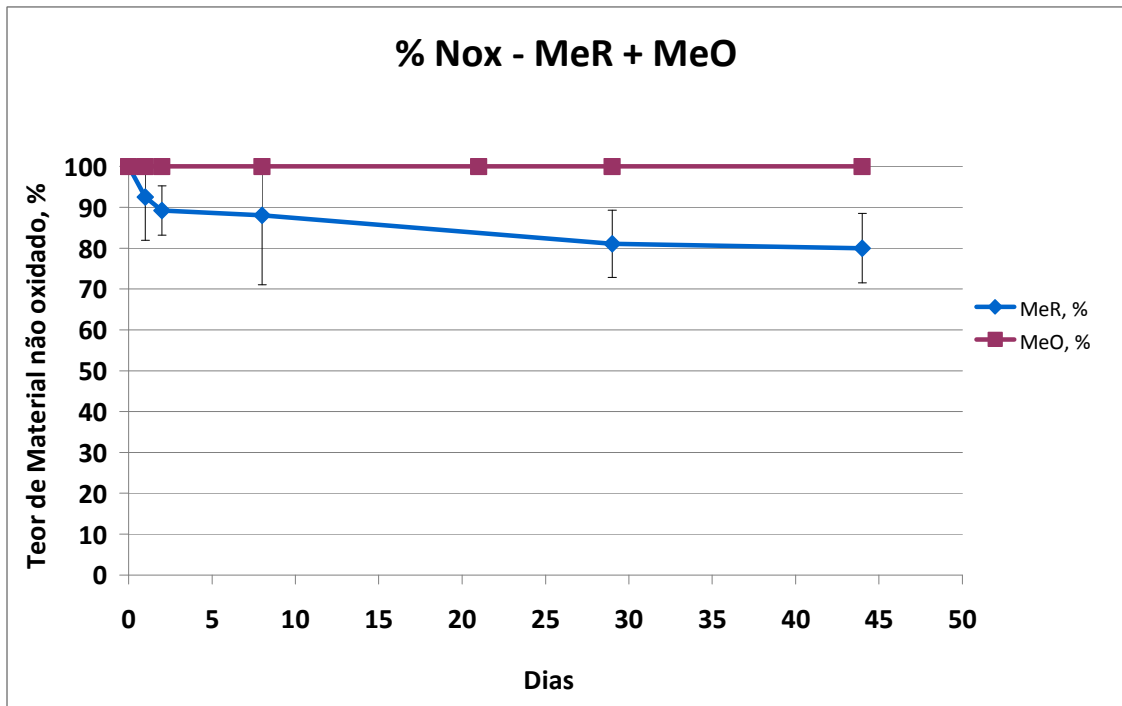


Figura 65: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo MeR + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.

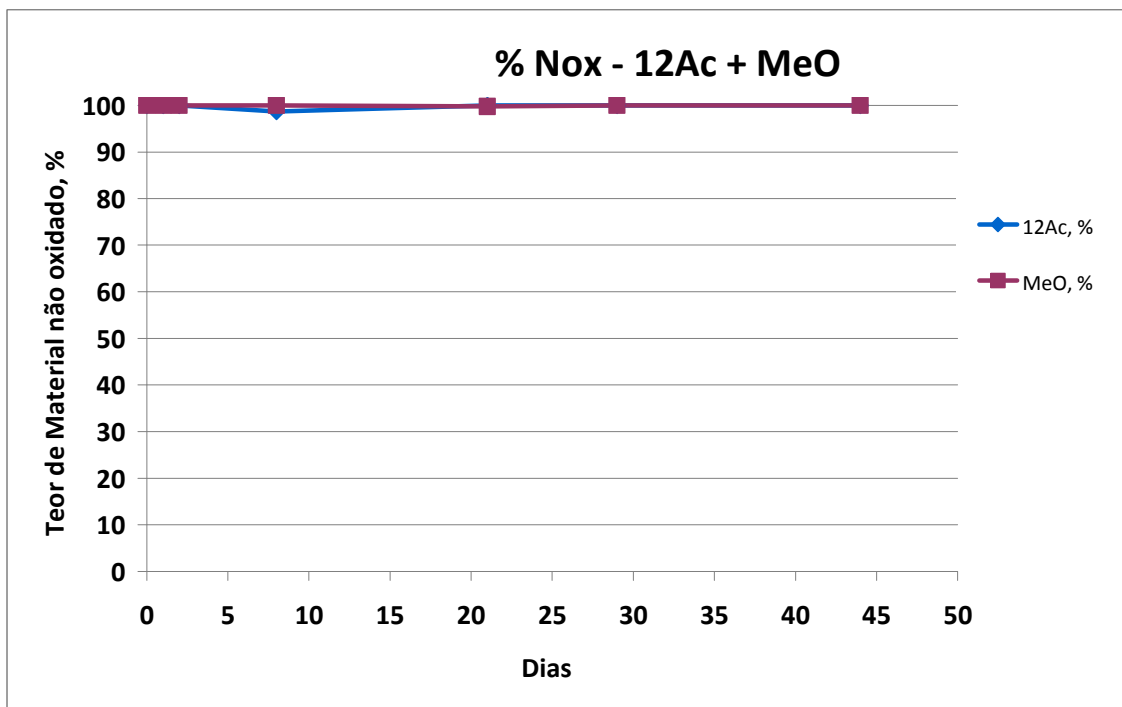
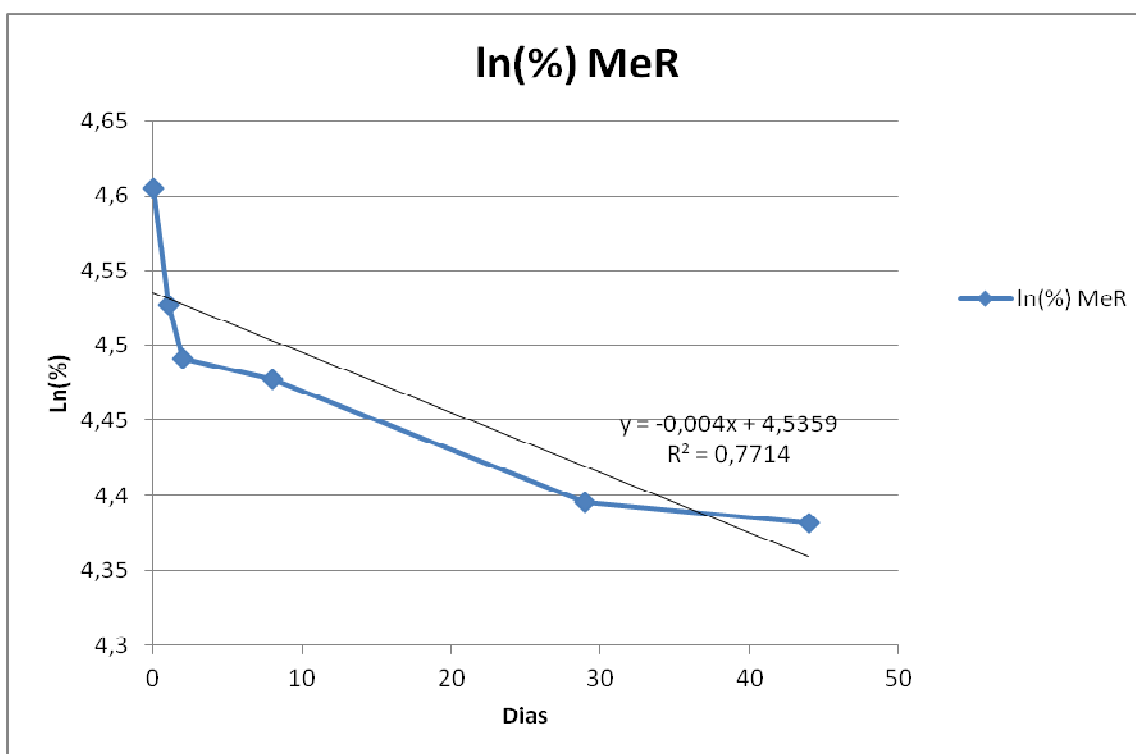


Figura 66: Valores de Nox (teor de material não oxidado) da amostra contendo 12Ac + MeO (1:1) ao longo do tempo, no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.

Conforme observado nas curvas anteriores, ambas as amostras contendo MeO apresentaram oxidação inferior às amostras que continham MeLi, mesmo em um período de tempo bem maior (44 dias). Isto pode ser constatado tanto pelos valores de IP quanto pelos valores de material não oxidado. Estes resultados confirmaram a hipótese da necessidade de uma fonte geradora de radicais livres, como o MeLi, para iniciar a oxidação dos compostos MeR e 12Ac. Devido à grande estabilidade oxidativa do MeO nas condições do ensaio, a taxa de oxidação destes compostos foi muito pequena (MeR) ou praticamente inexistente (12Ac).

Com o objetivo de se quantificar a taxa de oxidação do MeR, realizou-se a determinação da cinética de oxidação da amostra contendo este composto através da construção do gráfico logarítmico da mesma, conforme ilustrado na Figura 67.



**Figura 67: Curva para determinação da cinética de oxidação da amostra contendo MeR + MeO (1:1), no ensaio de oxidação de superfície a 60°C por 44 dias.**

Comparando-se a taxa de oxidação obtida para o MeR nestas condições à taxa obtida no ensaio com MeLi por 56 horas, observa-se que a taxa do MeR (quando junto ao MeLi) é  $3,27 \pm 0,003$  vezes maior do que a taxa do MeR (quando junto ao MeO), confirmando a teoria dos radicais livres.

#### 6.4.4 Índice de estabilidade oxidativa - OSI

A determinação do OSI foi realizada conforme descrito no capítulo 5 (Metodologia) em um equipamento ADM OSI. Foram analisadas quatro amostras puras (MeR, MeO, MeLi e 12Ac) e misturas de MeLi e MeO com os outros dois compostos (MeR e 12Ac) em quantidades iguais. O objetivo deste ensaio foi o de se comparar os resultados obtidos no mesmo, mais tradicional, com os obtidos pelo método de oxidação de superfície, analisando rigorosamente amostras com as mesmas composições. O método OSI se baseia na medição da condutividade elétrica dos compostos voláteis liberados durante a oxidação da amostra analisada. É muito utilizado na indústria alimentícia de óleos vegetais.

Na tabela 36, podem ser vistos os resultados em termos de OSI (tempo necessário para oxidação em horas).

**Tabela 36: Horas OSI a 110°C para amostras replicadas de ésteres metílicos puros e em combinações.**

<b>Amostra</b>	<b>Horas OSI *</b>
<b>Ricinoleato de metila (MeR)</b>	3,35 ± 0,00c
<b>Oleato de metila (MeO)</b>	1,65 ± 0,42d
<b>Linoleato de metila (MeLi)</b>	0,60 ± 0,07e
<b>12-acetilricinoleato de metila (12Ac)</b>	6,78 ± 0,40a
<b>MeR + MeO</b>	2,10 ± 0,07d
<b>MeR + MeLi</b>	0,50 ± 0,00e
<b>12Ac + MeO</b>	4,60 ± 0,07b
<b>12Ac + MeLi</b>	0,68 ± 0,11e

\* Média com desvio padrão para duas réplicas.

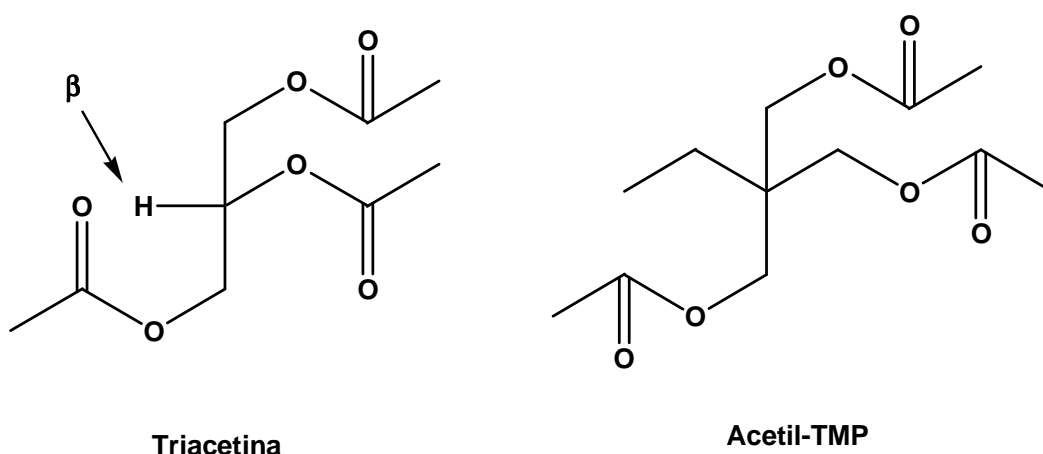
Como observado anteriormente na oxidação de superfície, o linoleato de metila foi o composto menos estável. Entretanto, o oleato de metila foi relativamente menos estável do que durante a oxidação de superfície. Isto pode indicar que a estabilidade do oleato de metila diminui rapidamente entre 60 e 110°C. O ricinoleato de metila aparenta ser aproximadamente 5,6 vezes mais estável do que o linoleato de metila, e 2 vezes mais estável do que o oleato de metila. Já o 12-acetilricinoleato de metila aparenta ser 11,3 vezes mais estável do que o linoleato de metila, 4,1 vezes mais estável do que o oleato de metila, e 2 vezes mais estável do que o ricinoleato de metila. As misturas com linoleato de metila diminuíram bastante a estabilidade dos

compostos, enquanto que nas misturas com o oleato de metila esta diminuição foi menor. Desta forma, conclui-se que a estabilidade relativa dos ésteres metílicos pode variar amplamente com a temperatura de utilização e com a presença de fontes de radicais livres.

Assim como na oxidação de superfície, a estabilidade do ricinoleato de metila foi acentuadamente melhorada pela inserção de um grupo éster no seu grupo hidroxil situado no carbono 12. Presume-se, assim, que a presença deste grupo éster afeta a facilidade de remoção do hidrogênio do carbono 11 do éster ricinolólico.

#### 6.4.5 Estudos de estabilidade térmica e sua relação com o hidrogênio $\beta$

Com o objetivo de se estudar na prática a teoria de que um triglicerídeo que não apresenta hidrogênio  $\beta$  é termicamente mais estável do que um que apresenta este hidrogênio (MOULOUNGUI e PELET, 2001), resolveu-se analisar dois compostos por meio de análise termogravimétrica (TGA) e de um aparato de decomposição térmica: Triacetina (com hidrogênio  $\beta$ ) e Acetil-TMP (sem hidrogênio  $\beta$ ). As moléculas destes compostos podem ser vistas na Figura 68. O uso de TGA é justificado devido ao fato de esta técnica ter sido utilizada com sucesso na análise da decomposição térmica de lubrificantes minerais e de óleo e biodiesel de mamona (SANTOS *et al.*, 2004). Através de TGA, pode-se observar o perfil de decomposição de um composto ao longo do tempo e em diferentes temperaturas.

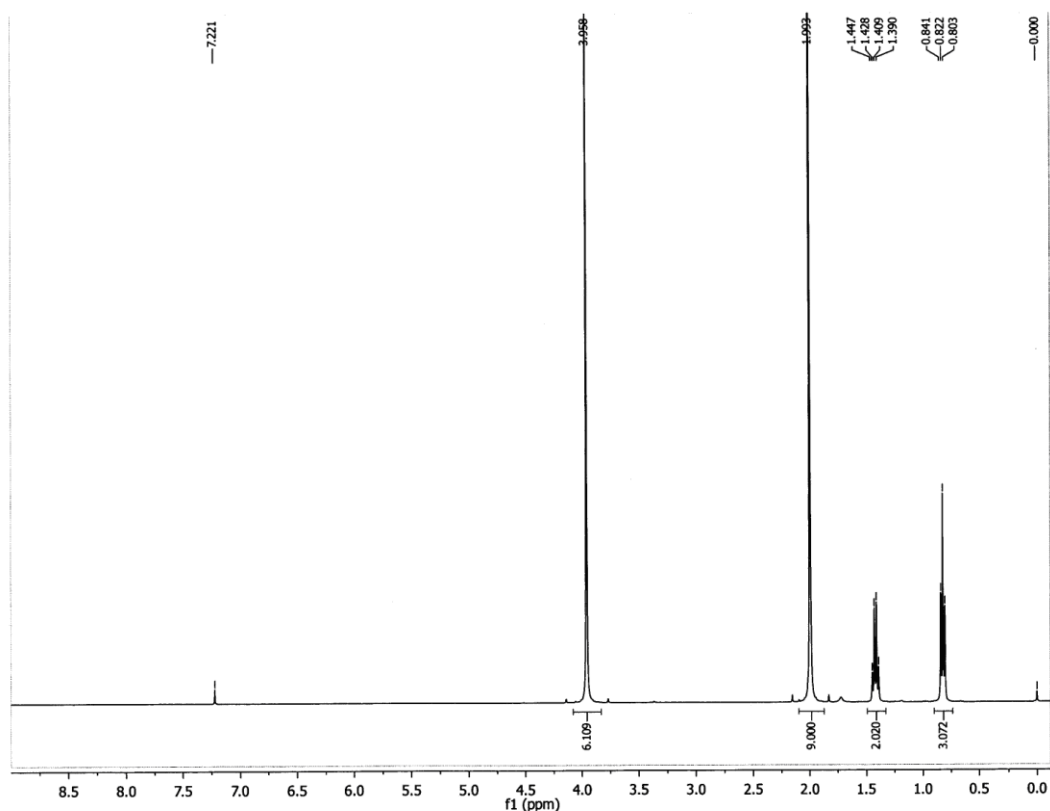


**Figura 68: Moléculas dos compostos Triacetina e Acetil-TMP.**

O composto Triacetina estava disponível comercialmente, no entanto foi necessário sintetizar o composto Acetil-TMP de acordo com o método descrito no capítulo 5 (Metodologia) (AOCS, 1993). Foram sintetizadas duas bateladas do produto Acetil-TMP, com rendimentos de 12,9 e 5,0%, respectivamente. Os pequenos



rendimentos observados se deveram a grandes perdas de material no procedimento de purificação com lavagens sucessivas com água em ebulição, o que poderia estar provocando a reação de hidrólise do Acetil-TMP formado. Além disso, em cada etapa de lavagem, havia a formação de uma forte emulsão, difícil de ser separada. Novas metodologias de purificação do Acetil-TMP serão testadas. Após estas duas sínteses, obteve-se aproximadamente 7g de Acetil-TMP 100% puro (GC e RMN), suficiente para as análises de TGA. A Figura 69 mostra o espectro de RMN do produto Acetil-TMP sintetizado.



**Figura 69: Espectro de RMN do Acetil-TMP (Anidrido Acético/TMP=6,125:1, T=140°C, 2 horas) em  $\text{CDCl}_3$**

As Figuras 70, 71, 72, 73, 74 e 75 mostram os resultados das análises de TGA dos dois compostos estudados.

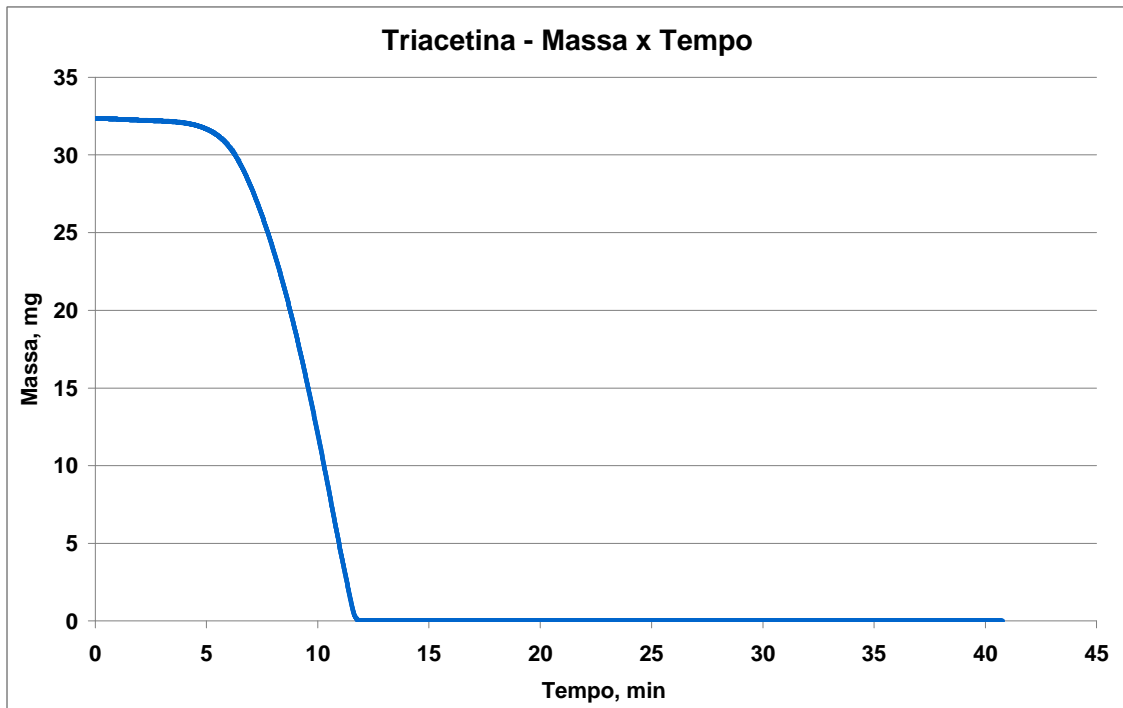


Figura 70: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Triacetina.

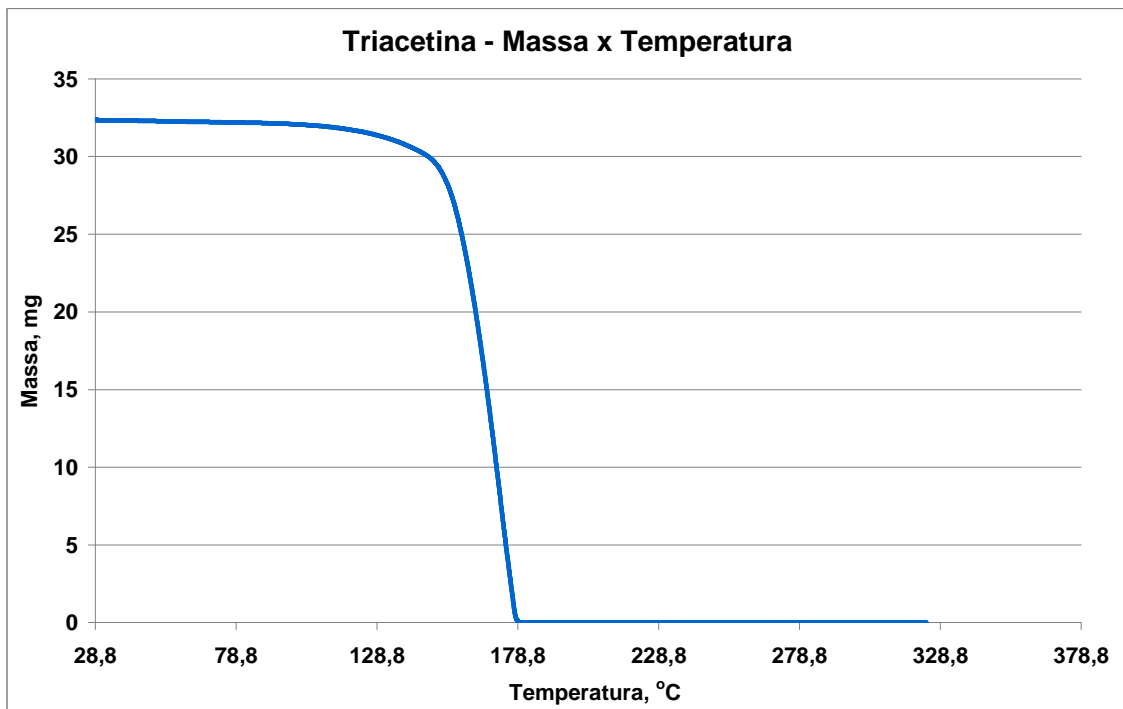


Figura 71: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Triacetina.

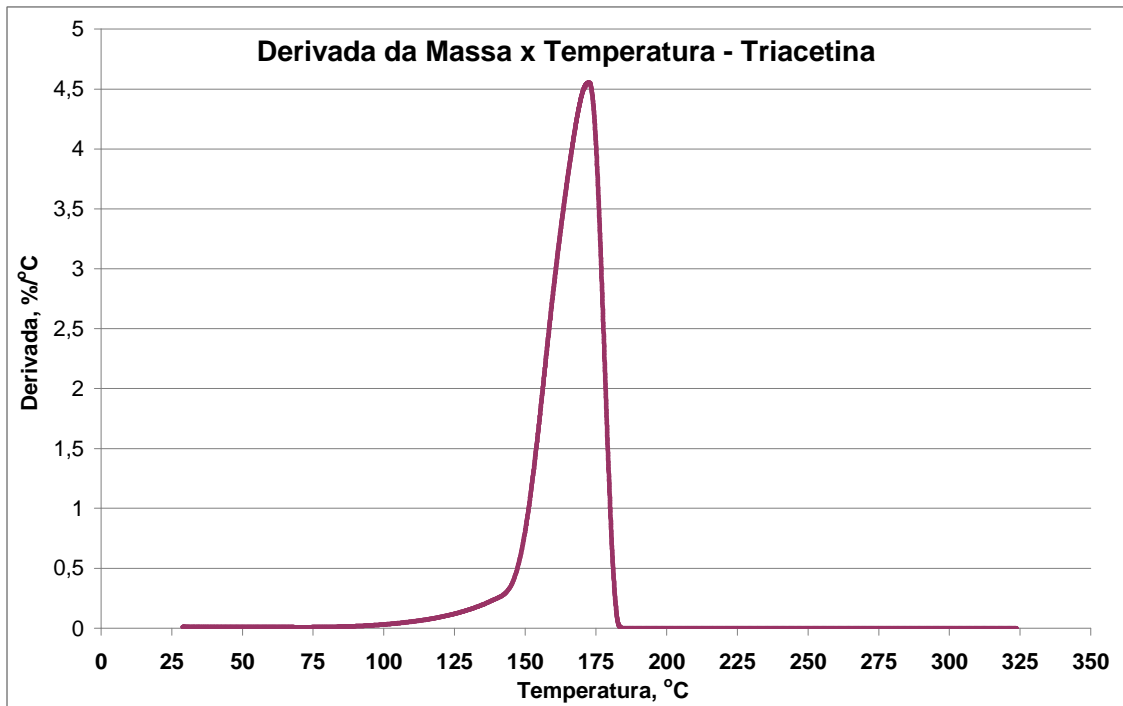


Figura 72: Curva TGA – Derivada Massa x Temperatura para o composto Triacetina.

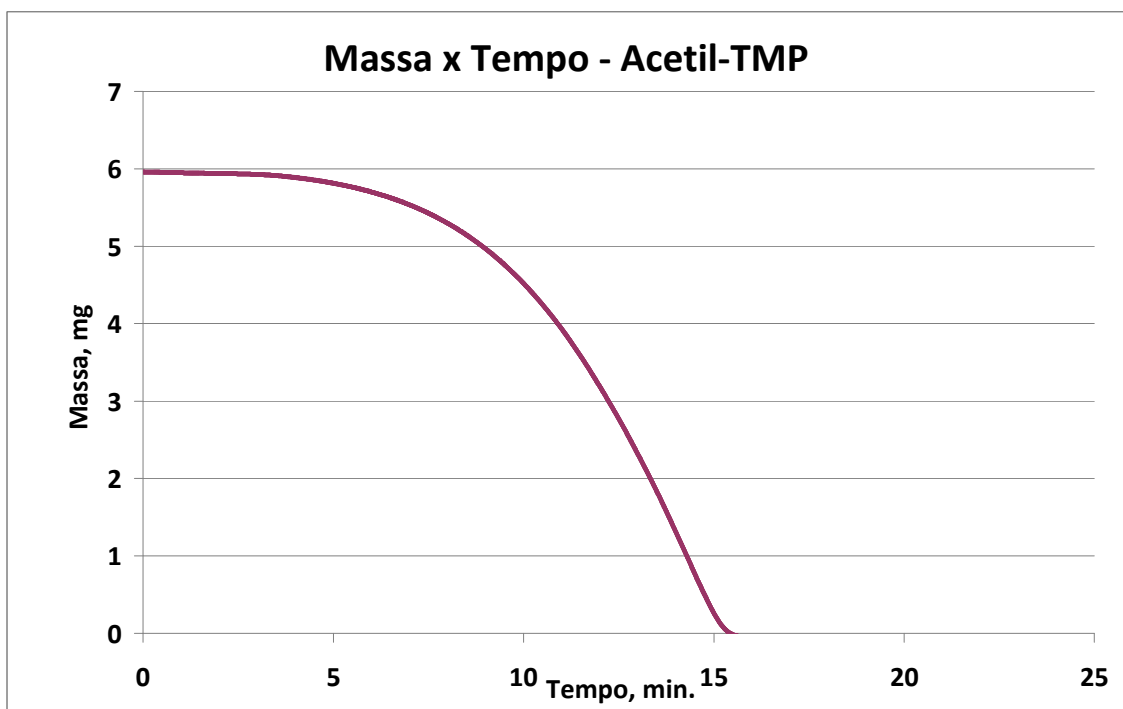


Figura 73: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Acetil-TMP.

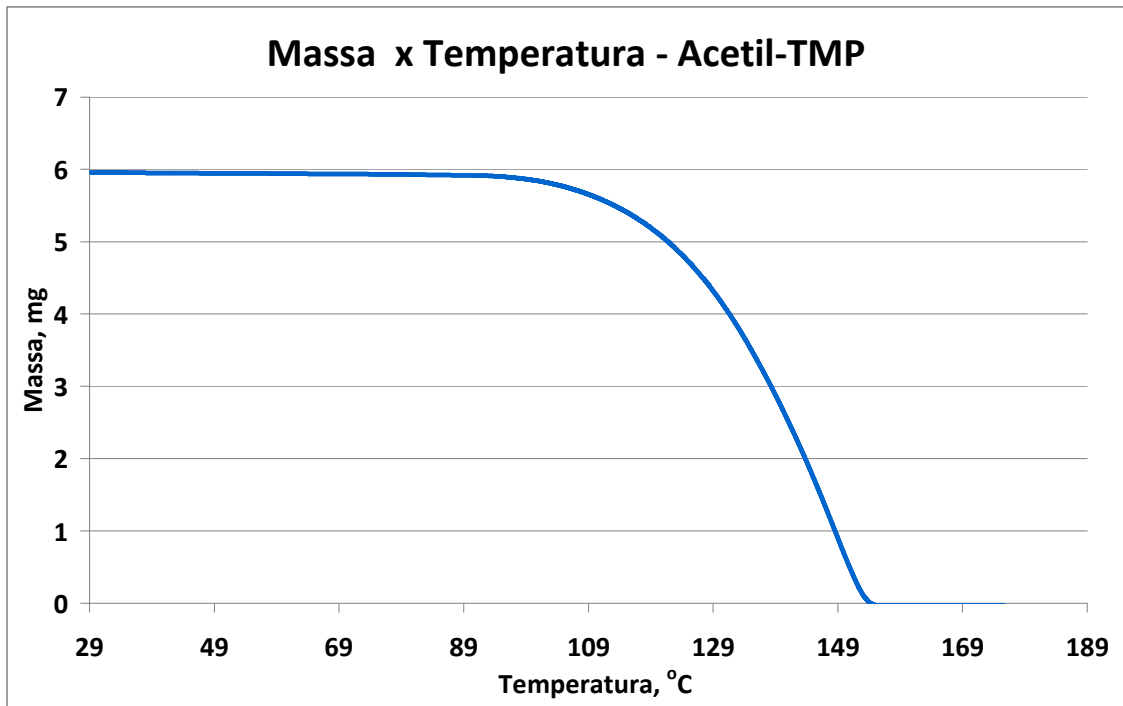


Figura 74: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Acetil-TMP.

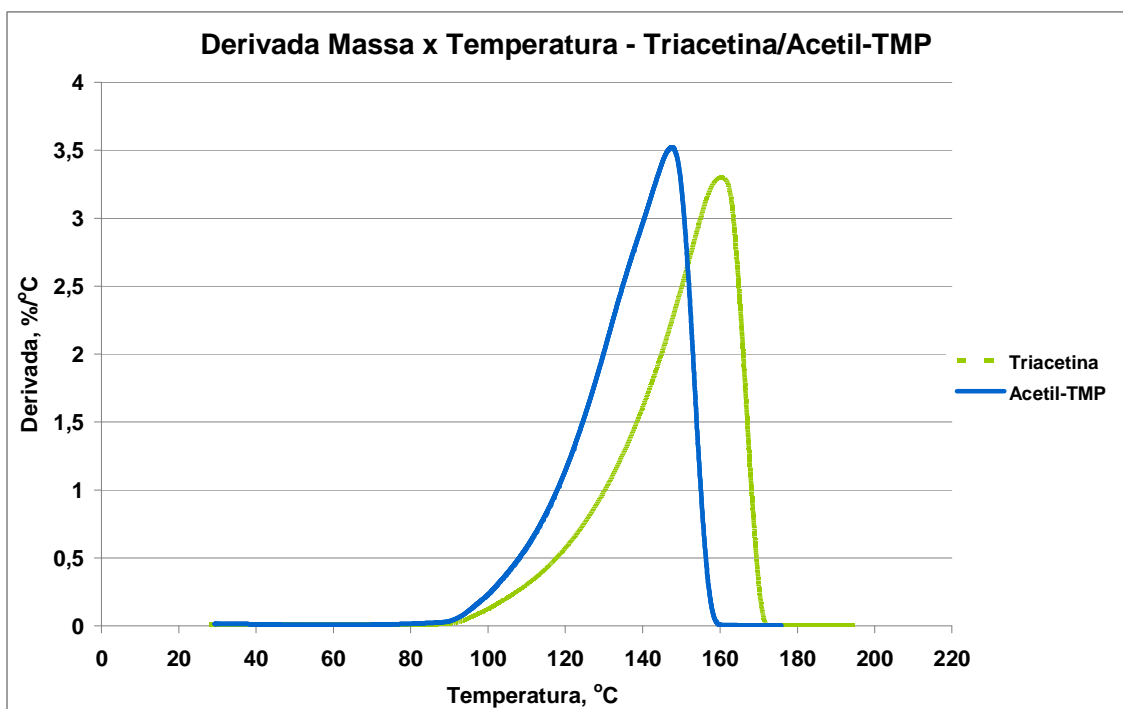


Figura 75: Curva TGA – Massa x Temperatura para os compostos Triacetina/Acetil-TMP.

As curvas da Figura 75 mostram que o composto Triacetina aparenta ser mais termicamente estável do que o Acetil-TMP, pois a Triacetina apresenta uma taxa máxima de decomposição e decomposição completa em temperaturas superiores às

observadas com o Acetil-TMP. Esta constatação não está de acordo com o citado na literatura, a qual afirma exatamente o oposto (MOULOINGUI e PELET, 2001). Com o objetivo de se investigar melhor estes resultados, foi realizada uma análise de TGA com a Triacetina à temperatura constante de 160°C. Os resultados estão nas Figuras 76, 77 e 78.

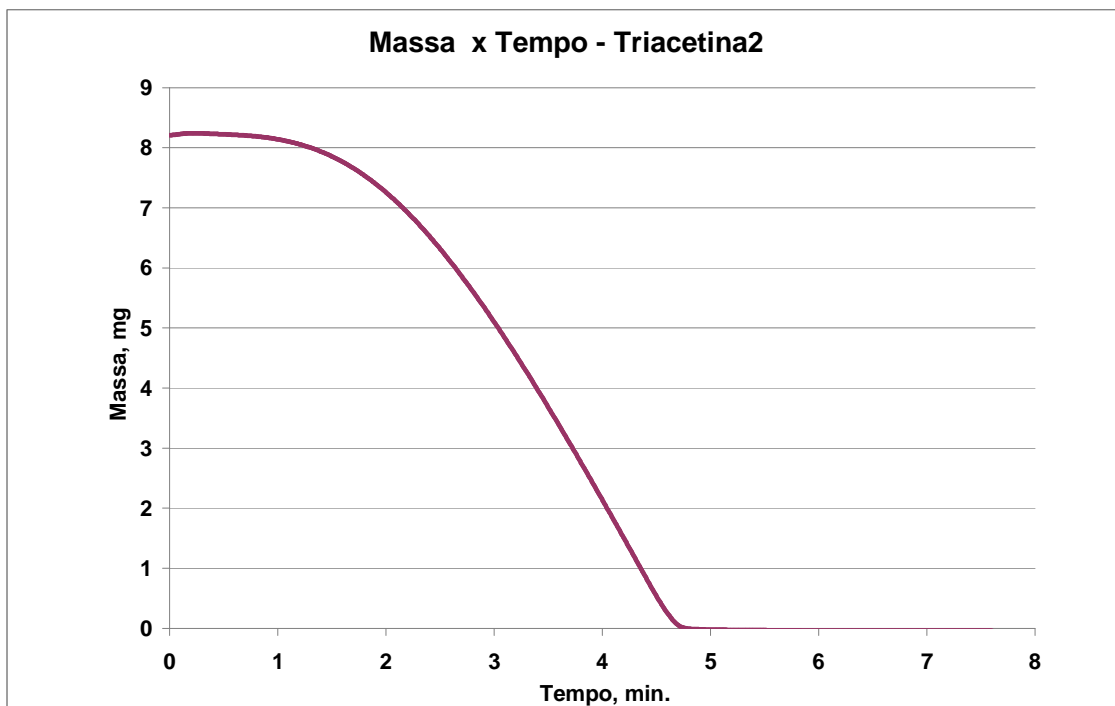


Figura 76: Curva TGA – Massa x Tempo para o composto Triacetina a 160°C.

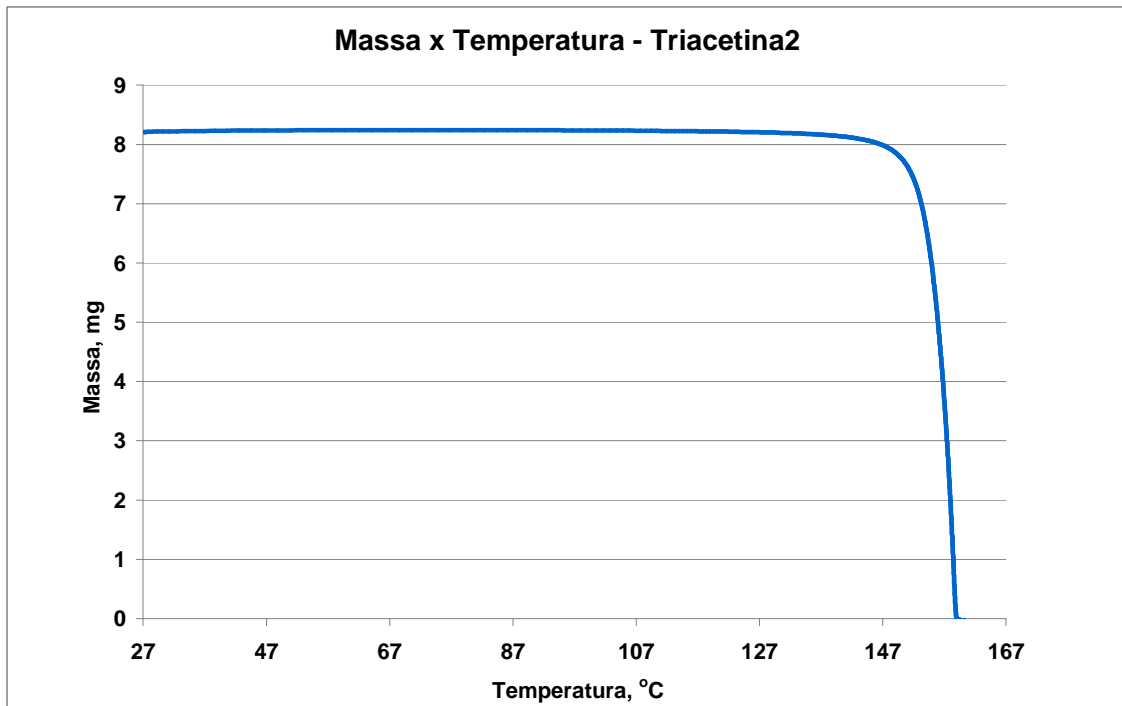


Figura 77: Curva TGA – Massa x Temperatura para o composto Triacetina a 160°C.

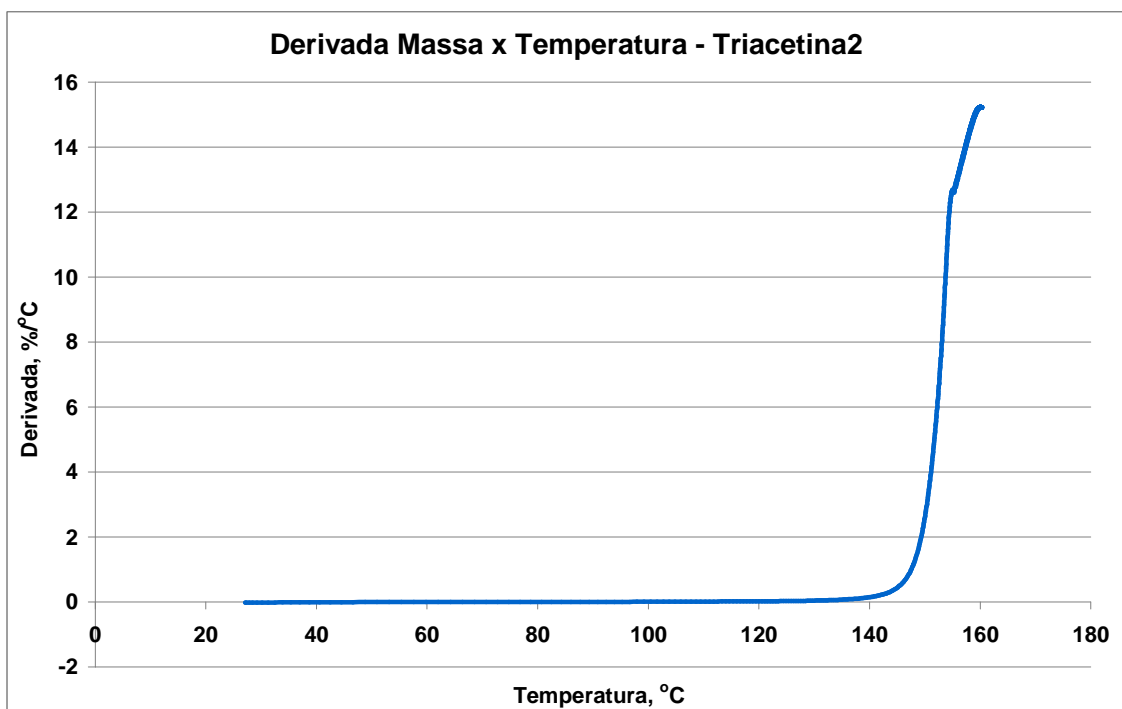


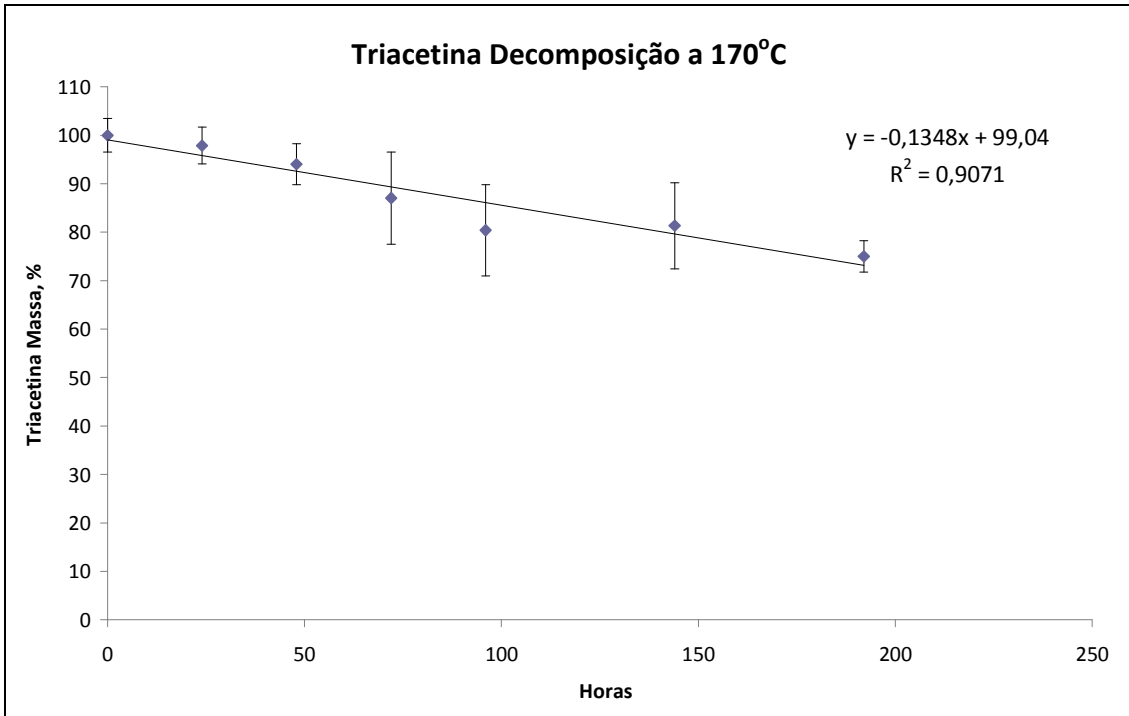
Figura 78: Curva TGA – Derivada Massa x Temperatura para o composto Triacetina a 160°C.

Os resultados destas análises não foram conclusivos devido ao fato de quase todo o material ter sido decomposto ou volatilizado antes que a temperatura atingisse

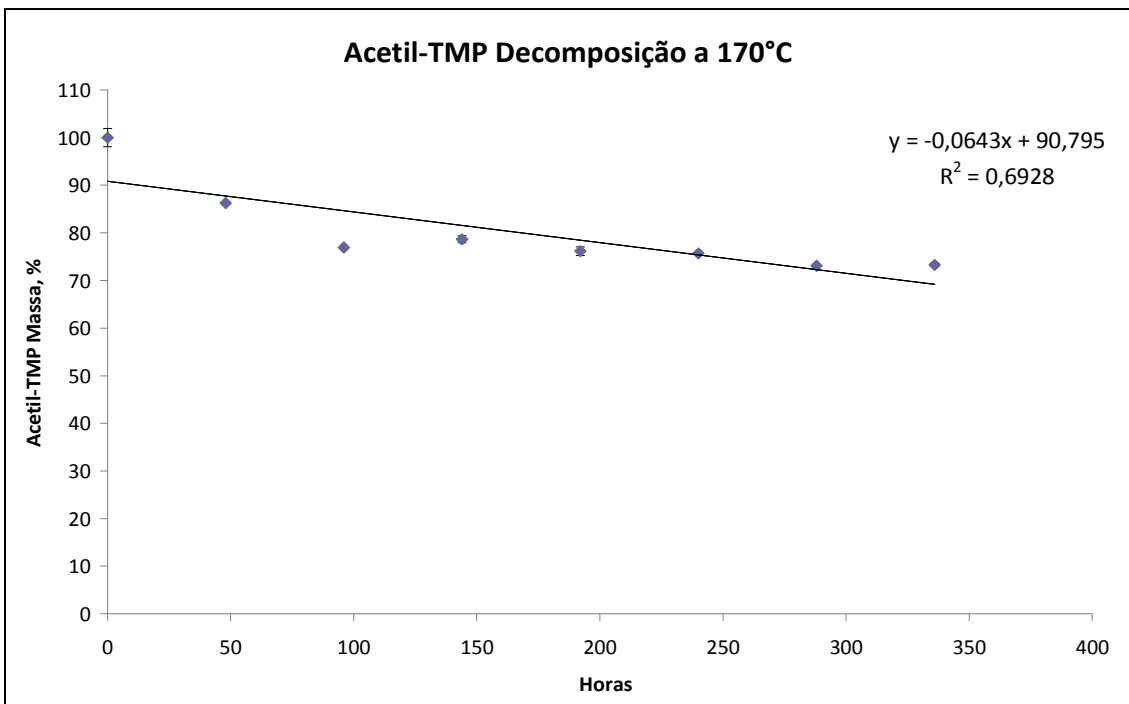
160°C. O objetivo inicial era acompanhar-se o decréscimo de massa com o tempo, a esta temperatura.

O ponto de ebulição da Triacetina é de 260°C e o do Acetil-TMP é um pouco superior a este valor. Desta forma, nas condições das análises TGA, as temperaturas finais (160°C) estavam bem distantes das temperaturas de ebulição de ambos os compostos. Assim, poder-se-ia concluir que a perda de massa observada seria devido a uma real decomposição, ao invés de volatilização. No entanto, as curvas TGA de massa x temperatura mostraram apenas um degrau de perda de peso, o que de acordo com SANTOS *et al.*, 2004, indica a ocorrência de uma parcela de volatilização. Esta volatilização observada foi do ácido acético formado na decomposição térmica de ambos os compostos.

Em função dos resultados não consistentes na avaliação da estabilidade térmica da Triacetina e do Acetil-TMP empregando-se TGA, decidiu-se analisar a decomposição térmica destes dois compostos em um aparato de laboratório (descrito no capítulo 5 - Metodologia), por meio do uso de GC para determinação dos produtos de decomposição. A decomposição térmica por refluxo durante vários dias produziu um forte odor de ácido acético com ambos os ésteres, e as análises por cromatografia gasosa mostraram perdas para os mesmos. Não foi possível quantificar o ácido acético produzido através de titulação, uma vez que a amostra era demasiado escura para titulação colorimétrica, e a quantidade da mesma impossibilitava titulação potenciométrica. Os resultados a 170°C podem ser vistos na Figuras 79 e 80. O comportamento em outras temperaturas foi similar.



**Figura 79: Curva de decomposição térmica da Triacetina a 170°C.**



**Figura 80: Curva de decomposição térmica do Acetil-TMP a 170°C.**

O desaparecimento da Triacetina seguiu uma taxa constante de redução, enquanto o acetil-TMP rapidamente perdeu 20% de sua massa e, então, estabilizou. De acordo com estes resultados de decomposição térmica a 170°C, o acetil-TMP



parece ser mais termicamente estável do que a Triacetina, uma vez que a taxa de decomposição deste último é levemente mais elevada do que a do acetil-TMP. Estes resultados parecem estar em acordo com a hipótese da instabilidade do hidrogênio beta (MOULOINGUI e PELET, 2001). O estudo de decomposição térmica com o aparato de laboratório se mostrou mais realista e confiável na avaliação da estabilidade térmica dos ésteres testados do que os ensaios com TGA, em função do maior controle das reações de decomposição.

Com o intuito de se confirmar a confiabilidade nos resultados obtidos com GC, a quantidade de acetil-TMP não oxidado após 336 horas (14 dias) foi determinada através de cromatografia de camada fina preparativa. O resultado obtido por esta técnica foi de 74,11%, enquanto apenas com o GC foi de 73,26%. Logo, os valores obtidos foram bem próximos, confirmando os resultados anteriormente obtidos apenas com GC.

## 7. CONCLUSÕES

Este trabalho comprovou a viabilidade técnica do processo enzimático para a síntese de biolubrificantes (ésteres), empregando lipases como biocatalisador. O processo enzimático apresentou conversões maiores (~98%) quando comparado ao processo via catálise química (~60%), para as mesmas reações estudadas.

Entre as matérias-primas estudadas (biodieseis de mamona, de soja e de pinhão manso), a mais promissora foi o biodiesel metílico de mamona, em função das conversões e das propriedades físico-químicas obtidas. Em função do grande investimento realizado nas regiões mais pobres do Brasil, com o objetivo de se incentivar o cultivo da mamona para que a mesma fosse a fonte principal do biodiesel a ser produzido no país, os resultados obtidos neste trabalho se tornaram mais valiosos, uma vez que a aplicação do biodiesel de mamona para a síntese de biolubrificantes é bastante nobre e representa um produto de alto valor agregado.

A catálise enzimática se mostrou vantajosa em termos de conversão e seletividade, quando comparada à catálise química, permanecendo como desafio se definir qual lipase se adequa melhor a cada biodiesel das diferentes oleaginosas existentes no Brasil.

Em termos de mecanismo de catálise, constatou-se a necessidade da presença de água para que a lipase apresentasse a sua conformação estrutural ativa, possibilitando a reação. Confirmou-se ainda a atuação seletiva das lipases de *Candida rugosa*, *Candida antarctica* e *Rhizomucor miehei* na posição 1 das moléculas dos ácidos graxos presentes no biodiesel. Para o biodiesel metílico de mamona, a lipase de *Candida rugosa* foi a mais eficiente, com uma conversão superior a 98%, em função de características estruturais desta enzima que se adequaram perfeitamente à molécula deste biodiesel. Além dos elevados valores de conversão obtidos, determinou-se as taxas de conversão do biodiesel metílico de mamona em biolubrificantes nas condições otimizadas:  $0,0572s^{-1}$  e  $3,9627g/h$  (para uma quantidade inicial de 100g).

Em termos de qualidade, também foram obtidos produtos com excelentes propriedades físico-químicas lubrificantes, como, por exemplo, viscosidade a  $100^{\circ}C$  em torno de 27cSt, índice de viscosidade em torno de 130 e ponto de fluidez aproximadamente de  $-42^{\circ}C$ .

Em relação à estabilidade oxidativa, os radicais livres gerados pelo composto linoleato de metila diminuíram significativamente a estabilidade dos FAME's (ésteres metílicos de ácidos graxos) monoinsaturados. As taxas de oxidação relativas dos FAME's puderam ser medidas por meio da oxidação de superfície, onde a reação de

oxidação seguiu uma cinética de primeira ordem, em contraste com as reações autocatalíticas observadas em oxidações no seio do líquido. O método de oxidação de superfície também requer pequenas quantidades de amostras. A desvantagem desta metodologia reside no fato de que a oxidação de ésteres monoinsaturados pode ser tão baixa que se torna difícil de ser observada a 60°C ou menos, além da não uniformidade na distribuição de metais na superfície da sílica poder introduzir erros significativos, especialmente quando a taxa de oxidação é baixa. Possivelmente, a remoção da maior parte dos íons metálicos com ácido e a sua substituição por uma quantidade conhecida de metais de transição poderia minimizar estes erros, pois, neste caso, ter-se-ia um maior controle e uma maior uniformidade dos produtos de cisão formados. A estabilidade relativa do ricinoleato de metila foi significativamente melhorada pela conversão do seu grupo hidroxila em um grupo éster, provavelmente devido ao hidrogênio de carbono 11 do ricinoleato estar mais fortemente ligado (efeito estérico). Para se obter uma maior estabilidade oxidativa em lubrificantes com base em óleo de mamona, os ácidos graxos poliinsaturados devem ser removidos rigorosamente e antioxidantes efetivos devem ser adicionados.

E finalmente, no tocante à estabilidade térmica, este trabalho resultou no estudo experimental da decomposição térmica de ésteres via hidrogênio  $\beta$ , os quais são utilizados como biolubrificantes. A utilização do refluxo acompanhado por GC conduziu ao desenvolvimento de uma ferramenta experimental para estudar a estabilidade térmica de biolubrificantes derivados de óleos vegetais. Os resultados desta decomposição térmica acoplada a análises de GC pareceu estar de acordo com a hipótese de instabilidade devido ao hidrogênio  $\beta$ .

## **8. TRABALHOS PUBLICADOS E PATENTES GERADAS**

No tocante a parte de catálise enzimática, este trabalho originou um pedido de depósito de patente (26/04/2012), Produção de biolubrificante a partir de biodiesel metílico de mamona e de biodiesel metílico de pinhão manso via catálise enzimática (INPI N° BR-102012 009723-3), além de dois artigos, um intitulado “Development of a biodegradable lubricant from castor biodiesel esters” publicado “online” em 13/09/2012 no periódico “Lubrication Science”, e o outro intitulado “Biolubricants Production via Enzymatic Catalysis”, em preparação para ser enviado ao periódico “Journal of Molecular Catalysis: B enzymatic”.

No tocante a parte de oxidação de superfície, este trabalho originou um artigo intitulado “Oxidative stability of methyl ricinoleate and methyl-12acetylricinoleate” já enviado ao periódico “The Journal of the American Oil Chemists’ Society”.

## 9. RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Como sugestões para trabalhos futuros, podem se destacar:

1. A reação de síntese de biolubrificantes a partir do biodiesel de mamona via catálise enzimática, otimizada neste trabalho, deverá ser testada em escala piloto em um reator batelada, com o objetivo de se produzir quantidades maiores destes produtos que possibilitem o desenvolvimento de formulações de lubrificantes acabados e a realização de testes de desempenho. Além disso, o escalonamento do processo estudado possibilitará a realização de cálculos de viabilidade econômica do mesmo mais próximos da realidade;
2. Otimização do uso dos biodieseis de soja e de pinhão manso para a produção de biolubrificantes;
3. Estudo da utilização de outros alcoóis, como pentaeritritol e neo-pentilglicol, com o objetivo de se obter biolubrificantes com graus de viscosidade diferentes;
4. Estudo das reações de transesterificação para a síntese de biolubrificantes empregando-se lipases desenvolvidas no laboratório de Biotecnologia Microbiana (LaBIM) do Instituto de Química da UFRJ (lipases “Home-made”);
5. Verificação da viabilidade técnica da realização da reação de acetilação da molécula de biodiesel por via enzimática, com o objetivo de se comparar com os resultados obtidos neste trabalho por via química;
6. Utilização dos óleos vegetais (mamona e pinhão manso) como matérias-primas diretamente nas reações de transesterificação, em lugar dos seus respectivos biodieseis;
7. Otimização das técnicas de determinação das estabilidades oxidativa e térmica de biolubrificantes desenvolvidas neste trabalho;
8. Estudo de aditivos antioxidantes biodegradáveis;
9. Desenvolvimento e utilização de membranas de pervaporação para remoção do álcool formado nas reações de transesterificação, ao invés da tradicional aplicação de vácuo;
10. Realização de testes de biodegradabilidade com os produtos obtidos.

## 10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADHVARYU, A., ERHAN, S. Z., LIU, Z. S., PEREZ, J. M., 2000, "Oxidation Kinetic Studies of Oils Derived from Unmodified and Genetically Modified Vegetables using Pressurized Differential Scanning Calorimetry and Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy", *Thermochim. Acta*, v. 364, pp. 87-97.

ANAND, O. N., MEHTA, J., PRASADA, T. S. R. R., 1998, "Lubricants Components from Vegetable Oils of Indian Origin", *J. Synth. Lubr.*, v. 15, n. 2, pp. 97-106.

ARNSEK, A., VIZINTIN, J., 1999, "Lubricating Properties of Rapeseedbased Oils", *Synthetic Lubrication* v.16, pp. 281–296.

ARAÚJO, M. A. S., 2003, *Óleos de Transmissão*, Petrobras/CENPES.

ASADAUSKAS, S., PEREZ, J. M., DUDA, J. L., 1997, "Lubrication Properties of Castor Oil – Potential Basestock for Biodegradable Lubricants", *Lubrication Engineering*, v. 53, nº12, pp. 35-41.

AZEVEDO, D. M. P., LIMA, E. F., 2001, *O Agronegócio da Mamona no Brasil*, 21ª ed., Brasília, Embrapa.

BALCÃO, V. M., PAIVA, A. L., MALCATA, F. X., 1996, "Bioreactors with Immobilized Lipases: State of the Art", *Enzyme Microb. Technol.*, v. 18, n. 6, pp. 392-416.

BARTZ, W. J., 2000, "Synthetic Hydraulic Fluids for High Performance Applications", *STLE 55th Annual Meeting*, Nashville, TN.

BAYER, E., SCHUMANN, W., 1986, "Liquid Phase Polymer-Based Catalysis for Stereo- and Regio-Selective Hydrogenation", *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, v. 12, pp. 949-952.

BERDEAUX, O., CHRISTIE, W. W., GUNSTONE, F. D., SEBEDUIO, J. L., 1997, "Large Scale Synthesis of Methyl *cis*-9, *trans*-11-octadecadienoate from Methyl Ricinoleate", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 74, nº8, pp. 1011-1015.

BHATTACHARYA, D. K., GHOSHRAY, S., 1992, "Preparation of Ricinoleic Acid Esters of Long-Chain Monohydric Alcohols and Properties of the Esters", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 69, nº 1, pp. 85-88.

BIROVÁ, A., PAVLOVICOVÁ, A., CVENGROS, J., 2002, "Lubricating Oils Base from Chemically Modified Vegetable Oils", *Journal of Synthetic Lubrication*, v.18, n. 18-4, pp. 292-299.

BONDIOLI, P., DELLA BELLA, L., MANGLAVITI, A., 2003, "Synthesis of Biolubricants with High Viscosity and High Oxidation Stability", *OCL*, v. 10, pp. 150-154.

BONDIOLI, P., 2005, "From Oil Seeds to Industrial Products: Present and Future Oleochemistry", *Journal of Synthetic Lubrication*, v. 21, n. 4, pp. 331-343.

CAINES, A., HAYCOCK, R., 1996, *Automotive Lubricants Reference Book*, 1ªed., Warrendale, SAE, Cap. 1 e 2.

CASTRO, H. F., MENDES, A. A., SANTOS, J. C. *et al*, 2004, "Modification of Oils and Fats by Biotransformation", *Química Nova*, v. 27, n. 1, pp. 146-156.

CHASAN, D., 1990, *Oxidation Inhibition in Organic Materials*, v. 1, CRC Press Inc., Boca Raton, FL.

DA SILVA, R. M. C. F., 1999, *Apostila do Curso de Planejamento de Experimentos* -- Comunicação Técnica DITEP 24/99 – Petrobras.

DE MARÍA, P. D., MONTERO, J. M. S., SINISTERRA, J. V., ALCÁNTARA, A. R., 2006, "Understanding *Candida Rugosa* Lipases: An Overview", *Biotechnology Advances*, 24, pp. 180-196.

DO BRASIL, N. I., ARAÚJO, M. A. S., DE SOUSA, E. C. M., 2011, *Processamento de Petróleo e Gás*, 1ª Ed, Rio de Janeiro, LTC, Cap. 17.

DOSSAT, V., COMBES, D., MARTY, A., 2002, "Efficient Lipase Catalysed Production of a Lubricant and Surfactant Formulation using a Continuous Solvent-Free Process", *Journal of Biotechnology*, v. 97, pp. 117-124.

DWIVEDI, M. C., SAPRE, S., 2002, "Total Vegetable-Oil Based Greases Prepared from Castor Oil", *J. Synth. Lubr.*, v. 19, n. 3, pp. 229-241.

ERHAN, S. M., KLEIMAN, R., 1997, "Biodegradation of Estolides from Monounsaturated Fatty Acids", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 74, n. 5, pp. 605-607.

ERHAN, S., PEREZ, J.M., 2002, *Biobased Industrial Fluids and Lubricants*, IL, AOCS Press, pp. 46-58.

ERHAN, S. Z., SHARMA, B. K., LIU, Z., ADHVARYU, A., 2008, "Lubricant Base Stock Potential of Chemically Modified Vegetable Oils", *J. Agric. Food Chem.*, v. 56, pp. 8919-8925.

ERHAN, S. Z., ASADAUSKAS, S., ADHVARYU, A., 2002, "Correlation of Viscosities of Vegetable Oil Blends with Selected Esters and Hydrocarbons", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 79, n. 11, pp. 1157-1161.

FABER, K., 1997, *Biotransformations in Organic Chemistry: A Textbook*, 3<sup>rd</sup> ed., Springer Produktions-Gesellschaft: Berlin, Cap. 2.

FACCIO, C., 2004, *Estudo da Produção de Ésteres Etílicos a partir da Alcoólise de Óleos Vegetais*, Dissertação de M. Sc., PME/DCA/URI, Erechim, RS, Brasil.

FARIA, E. A., LELES, M. I. G., IONASHIRO, M., ZUPPA, T. O., ANTONIOSI FILHO, N. R., 2002, *Estudo da Estabilidade Térmica de Óleos e Gorduras Vegetais por TG/DTG e DTA*, *Eclética Química*, 27, pp. 1-9.

FATEMI, S. H., HAMMOND, E. G., 1980, "Analysis of Oleate, Linoleate and Linolenate Hydroperoxides in Oxidized Ester Mixtures", *Lipids*, 15, pp. 379-385.

FESSENBECKER, A., KORFF, J., 1994, "Additive für Ökologisch Unbedenkliche Schmierstoffe", *9<sup>th</sup> International Kolloquium Tribologie Esslingen*, pp. 11.12.1-11.14.14.

FOX, N. J., STACHOWIAK, G. W., 2003, "Boundary Lubrication Properties of Oxidized Sunflower Oil", *Lubr. Eng.*, v. 59, n.2, pp. 15-20.



FREIRE, D. M. G., TELES, E. M. F., BON, E. P. S., SANT'ANNA, G. L., 1997, "Lipase Production by *Penicillium restrictum* in a Bench-Scale Fermenter – Effect of Carbon and Nitrogen Nutrition, Agitation, and Aeration", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v. 63-65, pp. 409-421.

FREIRE, D. M. G., CASTILHO, L. R., 2008, *Lipases em Biocatálise*, In: Elba Pinto da Silva; Maria Antonieta Ferrara; Maria Luisa Corvo. (Org.). *Enzimas em Biotecnologia. Produção, Aplicações e Mercado*, 1ª ed., Rio de Janeiro, Interciência, v. 1, pp. 367-383.

FREIRE, D. M. G., SOUSA, J. S., OLIVEIRA, E. A. C., 2011, "Biotechnological Methods to Produce Biodiesel", in Ashok Pandey, Christian Larroche, Steven C Ricke, Claude-Gilles Dussap, Edgard Gnansounou, editores, *Biofuels*, Academic Press, Burlington, pp. 315-337.

GLENN, T. F., 2003, "Glints of Green in the DIY Market", *Lubes and Greases*, v. 9, nº10, pp. 64-65.

GHOSH, M., BHATTACHARYYA, D. K., 1998, "Lipase-Catalysed Synthesis of Hydroxy Stearates and their Properties", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 75, nº 8, pp. 1057-1059.

GOYAN, R. L., MELLEY, R. E., WISSNER, P. A., ONG, W. C., 1998, "Biodegradable Lubricants", *Lubr. Eng.*, v. 54, pp. 10-17.

GUNDERSON, R. C., HART, A. W., 1962, *Synthetic Lubricants*, Reinhold, New York, pp. 103-150.

GUNSTONE, F. D., PADLEY, F. B., 1997, "Lipid Technologies and Applications", 1ª Ed, Marcel Dekker, pp. 178-188; 245-259.

HONARY, L. A. T., 1996, "An Investigation of the Use of Soybean Oil in Hydraulic Systems", *Biores. Technol.*, v. 56, pp. 41-47.

HONARY, L. A. T., 2009, "Biolubricants: A global Overview", *AOCS Inform*, v. 20 (4), pp. 256-259.

HONARY, L. A. T., RICHTER, E., 2011, "Biobased Lubricants and Greases", 1<sup>a</sup> Ed, Wiley, pp. 92-101.

HOU, C. T., SHIMADA, Y., 2009, "Lipases", *Encyclopedia of Microbiology*, 3<sup>a</sup> Ed, pp. 385-392.

HWANG, H.-S., ADHVARYU, A., ERHAN, S. Z., 2003, "Preparation and Properties of Lubricant Basestocks from Epoxidized Soybean Oil and 2-Ethylhexanol", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 80, n. 8, pp. 811-815.

JÄÄSKELÄINEN, S., VERMA, C. S., HUBBARD, R. E., LINKO, P., CAVES, L. S. D., 1998, "Conformational Change in the Activation of Lipase: An Analysis in Terms of Low-Frequency Normal Modes", *Protein Sci.*, v. 7, pp. 1359-1367.

JAEGER, K-E., REETZ, M. T., 1998, "Microbial Lipases form Versatile Tools for Biotechnology", *TIBTECH*, v. 16, pp. 396-403.

KAZLAUSKAS, R. J., BORNSCHEUER, U. T., 1998, *A Multi-Volume Comprehensive Treatise Biotechnology*, Rehm, H. J.; Stader, P., Eds., vol. 8A, pp. 38.

KITAMURA, N., 1993, "Biodegradable Lubricants", *Japanese J. Tribol.*, v. 38, n. 5, pp. 639-648.

KNOTHE, G., 2008, "Designer Biodiesel: Optimizing Fatty Ester Composition to Improve Fuel Properties", *Energy Fuels*, v. 22, pp. 1358-1364.

KOLWZAN, B., GRYGLEWICZ, S., 2003, "Synthesis and Biodegradability of some Adipic and Sebacic Esters", *Journal of Synthetic Lubrication*, v. 20, n. 2, pp. 100-107.

KOPRUCUOGLU Y., CALKOGLU E., TEKIN A., HAMMOND E. G., 2011, "Effect of Some Transition Metals on the Monolayer Oxidation of Methyl Linoleate", *J Am Oil Chem Soc*, v. 88, pp. 1845-1848.

LÄMSÄ, M., 1995, *Environmentally Friendly Products Based on Vegetable Oils*. Tese de D.Sc., Helsinki University of Technology, Helsinki, Finlândia.

LANGONE, M. A. P., 1998, *Síntese de Triglicérides Catalisada por Lipases*, Tese de D. Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

LASTRES, L. F. M., 2003, *Lubrificantes e Lubrificação em Motores de Combustão Interna*, Petrobras/CENPES.

LAVATE, S.S., LAL, K., HUANG, C., 1997, *Tribology Data Handbook*, CRC Press, Boca Raton, PP. 103-116.

LINDEMANN, L., GOSALIA, A., 2012, "The Impact of the Global Raw Material Landscape on the Worldwide Lubricants Market or Vice-Versa?", 18<sup>th</sup>, In: *Proceedings of the 18<sup>th</sup> TAE International Colloquium Tribology*, v.1, pp. 2, Ostfildern, Alemanha, Jan.

LINKO, Y. Y., LÄMSÄ, M., XIAOYAN, W., UOSUKAINEN, E., SEPPÄLÄ, J., LINKO, P., 1998, "Biodegradable Products by Lipase Biocatalysis", *Journal of Biotechnology*, v. 66, pp. 41-50.

LUBRIZOL, 2002, *Ready Reference for Lubricant and Fuel Performance*, pp. 48.

LUNDBERG, W. O., 1962, *Symposium on Foods: Lipids and Their Oxidation*, 1<sup>a</sup> Ed., H. W. Schultz, Westport, CT, pp. 31-47.

MAKKONEN, I., 1994, "Environmentally Compatible Oils", *FERI*, Canada Pointe-Claire, Quebec, Canada.

MARTY, A., DOSSAT, V., COMBES, D., 2002, "Lipase-Catalysed Transesterification of High Oleic Sunflower Oil", *Enzyme and Microbial Technology*, v. 30, pp. 90-94.

MERCHANT, M. E., 1946, "Theory of Friction and its Part in the Metal Cutting Process", *Lubr. Eng.*, v. 2, pp. 4-27.

MILES, P., 1998, "Synthetic vs. Mineral Oils: Applications, Options, and Performance", *J. Synthetic Lubrication*, v. 15, pp. 43-52.

MOULOUNGUI Z., PELET S., 2001, "Study of the Acyl Transfer Reaction: Structure and Properties of Glycerol Carbonate Esters", *Eur. J. Lipid Sci. Technol.*, 103, pp. 216–222.

MURPHY, W. R., BLAIN, D. A., GALIANO-ROTH, A. S., 2002, "Benefits of Synthetic Lubricants in Industrial Applications", *J. Synthetic Lubrication*, v. 18, n. 18-4 (Jan), pp. 301-325.

NORMA AOCS Cd 4-40, 1993, "Acetyl and Hydroxyl Values".

NORMA AOCS Cd 8-53, 1996, " Peroxide Value – Acetic Acid Chloroform Method".

NORMA AOCS Cd 12b-92, 2009, "Oil Stability Index".

NORMA ASTM D 445, 2009, "Standard Test Method for Kinematic Viscosity of Transparent and Opaque Liquids (and the Calculation of Dynamic Viscosity)".

NORMA ASTM D 2270, 2004, "Standard Practice for Calculating Viscosity Index from Kinematic Viscosity at 40 and 100°C".

NORMA ASTM D 97, 2009, "Standard Test Method for Pour Point of Petroleum Products".

NORMA ASTM D 2272, 2009, "Standard Test Method for Oxidation Stability of Steam Turbine Oils by Rotating Pressure Vessel".

OHTA, Y., YAMANE, T., SHIMIZU, S., 1989, "Inhibition and Inactivation of Lipase by Fat Peroxide in the Course of Batch and Continuous Glycerolysis of Fat by Lipase", *Agric. Biol. Chem.*, v.53, pp. 1885-1890.

OLIVEIRA, D., DI, LUCCIO, M., FACCIO, C., ROSA, C. D., BENDER, J. P., LIPKE, N., MENONCIN, S., AMROGINSKI, C., OLIVEIRA, J. V., 2004, "Optimization of Enzymatic Production of Biodiesel from Castor Oil in Organic Solvent Medium", *Applied Biochemistry and Biotechnology*, v.113/116, pp. 771-780.

PÁGINA DA INTERNET, 2012, <http://www.cnpso.embrapa.br>

PÁGINA DA INTERNET, 2012, <http://www.pinhaomanso.com.br>.

PÁGINA DA INTERNET, 2012, <http://www.soystats.com>

PATIL, A. S., PATTANSHETTI, V. A., DWIVEDI, M. C., 1998, "Functional Fluids and Additives based on Vegetable Oils and Natural Products: a Review of the Potential", *J. Synth. Lubr.*, v. 15, n. 3, pp. 193-211.

PATIN, L. J., JAMES, D. K., 2002, "Biodegradable and Fire-Resistant Hydraulic Fluids: Now You can have Both", *Lubricants World*, November, pp. 26.

PATTERSON, H. B. W., 1989, *Handling and Storage of Oilseeds, Oils, Fats and Meal*, 1ª Ed., Elsevier Science, London.

POKORNY, J., 1987, "Major Factors Affecting the Autoxidation of Lipids in Autoxidation of Unsaturated Lipids", 1ª Ed, Chan HWS Edicotr, Academic Press, New York, pp. 141-206;

PORTER, W. L., LEVASSEUR, L. A., HENICK, A. S., JEFFERS, J. I., 1971, "UV Spectrophotometry of Autoxidized Lipid Monolayers While on Silica Gel", *Lipids* 6, pp. 16-25.

PORTER, W. L., LEVASSEUR, L. A., HENICK, A. S., 1972, "Effects of Surface Concentration, Metals and Acid Synergists on Autoxidation of Linoleic Acid Monolayers on Silica", *Lipids*, 7, pp. 699-709.

PROMPERS, J. J., GROENEWEGEN, A., HILBERS, C. W., PEPERMANS H. A. M., 1999, "Backbone Dynamics of Fusarium solani pisi cutinase probed by NMR. The Lack of Interfacial Activation Revisited", *Biochemistry*, v. 38, pp. 5315-5327.

RANGANATHAN, S. V., NARASIMHAN, S. J., MUTHUKUMAR, K., 2008, "An Overview of Enzymatic Production of Biodiesel", *Bioresource Technologie*, v. 99, pp. 3975-3981.

RASBERGER, M., 1997, "Oxidative Degradation and Stabilization of Mineral Oil Based Lubricants", *Chemistry and Technology of Lubricants*, R.M. Mortier and S.T. Orzulik, Eds., Blackie and Son Ltd., Glasgow, pp. 83-123.

REETZ, M. T., 2002, "Lipase as Practical Biocatalysts", *Current Opinion in Chemical Biology*, v. 6, pp. 145-150.

REMMELE, E., WIDEMANN, B., 1999, "Suitability and Environmental Compatibility of Rapeseed Oil Based Hydraulic Fluids for Agricultural Machinery", *J. Synth. Lubr.*, v. 16, pp. 129–145.

RICHTLER, H. J., KNAUT, J., 1984, "Challenges to a Mature Industry: Marketing and Economics of Oleochemicals in Western Europe", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 61, n. 2, pp. 160-175.

ROSA, C., MORANDIM, M., NINOW, J., OLIVEIRA, D., TREICHEL, H., OLIVEIRA, J., 2008, "Lipase-Catalyzed Production of Fatty Acid Ethyl Esters from Soybean Oil in Compressed Propane", *Journal of Supercritical Fluids*, v. 47, n. 1, pp. 49-53.

RUDNICK, L. R., SHUBKIN, R. L., 1999, "Synthetic Lubricants and High-Performance Functional Fluids", *Marcel Dekker*, New York, Cap. 1, 3–5.

RUDNICK, L. R., 2003, "Additives: Chemistry and Applications", *Marcel Dekker*, New York, pp. 1-27.

RUDNICK, L. R., 2006, "Synthetics, Mineral Oils, and Bio-Based Lubricants – Chemistry and Technology", *CRC Press*, Cap. 21, 22 e 24.

SANTOS, J. C. O., SANTOS, I. M. G., SOUZA, A. G., SOBRINHO, E. V., FERNANDES Jr, V. J., SILVA, A. J. N., 2004, "Thermoanalytical and Rheological Characterization of Automotive Mineral Lubricants after Thermal Degradation", *Fuel*, v. 83, pp. 2393-2399.

SARDA, L., DESNUELLE, P., 1958, "Action de la Lipase Pancréatique sur les Esters en Émulsion", *Biochimica et Biophysica Acta*, v. 58, pp. 513-521.

SARROUH, B., SANTOS, T., MIYOSHI, A., DIAS, R., AZEVEDO, V., 2012, "Up-to-Date Insight on Industrial Enzymes Applications and Global Market", *Bioprocessing & Biotechniques*, S:4, pp. 1-10.

SHANLEY, A., 1998, "Enzymes Usher in a New Era", *Chem. Eng.* v. 105, n. 7, pp. 63-65.

SIMAS, A. B. C., SILVA, A. A. T., CUNHA, A. G., ASSUMPÇÃO, R. S., HOELZ, L. V. B., NEVES, B. C., GALVÃO, T. C., ALMEIDA, R. V., ALBUQUERQUE, M. G., FREIRE, D. M. G., ALENCASTRO, R. B., 2011, "Kinetic Resolution of ( $\pm$ )-1,2-O-isopropylidene-3,6-di-O-benzyl-*myo*-inositol by Lipases: An Experimental and Theoretical Study on the Reaction of a Key Precursor of Chiral Inositols", *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 70, pp. 32-40.

SILVA, J. A. C., 2006, *Desenvolvimento de um Lubrificante Biodegradável a partir de Ésteres do Biodiesel da Mamona*, Dissertação de M. Sc., COPPE/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

SLAWSON V., ADAMSON A. S., MEAD J. F., 1973, "Autoxidation of Polyunsaturated Fatty Esters on Silica", *Lipids*, 8, pp. 129-134.

SOLOMONS, T. W. G., 1983, *Química Orgânica*, 1ª ed., Rio de Janeiro, LTC.

SUBCZYNSKI, W. K., HYDE, J. S., 1984, "Diffusion of Oxygen in Water and Hydrocarbons Using an Electron Spin Resonance Spin-Label Technique", *Biophysics Journal*, v. 45, pp. 743.

TEKIN A., HAMMOND E. G., 2004, "Products of the Surface Oxidation of Methyl Linoleate", *Journal of the American Oil Chemists' Society*, v. 81, n.5, pp. 481-485.

UOSUKAINEN, E., LINKO, Y. Y., LÄMSÄ, M., TERVAKANGAS, T., LINKO, P., 1998, "Transesterification of Trimethylolpropane and Rapeseed Oil Methyl Ester to Environmentally Acceptable Lubricants", *Journal of the American Oil Chemist's Society*, v. 75, n.11, pp. 1557-1563.

VERGER, R., 1997, "Interfacial Activation of Lipases: Facts and Artifacts", *Trends in Biotechnology*, v. 15, pp. 32-38.

VIEIRA, T. M. F. S., 2012, *Caracterização e Uso dos Óleos de Soja, Girassol, Carçoço de Algodão e seus Co-Produtos*, Apostila do curso Capacitação em Biodiesel, Petrobras/UP.

VULFSON, E. N., 1994, "Lipases: Their Structure, Biochemistry and Application", Woolley, P., Petersen, S. B., Eds.; *Cambridge University Press*, Grã-Bretanha, pp. 271.

YAHYA, A. R. M., ANDERSON, W. A., MOO-YOUNG, M., 1998, "Ester Synthesis in Lipase-Catalyzed Reactions", *Enzyme Microb. Technol.*, v. 23, n. 7-8, pp. 438-450.

YAO, L., HAMMOND, E. G., WANG, T., BHUYAN, S., SUNDARARAJANN, S., 2010, "Synthesis and Physical Properties of Potential Biolubricants Based on Ricinoleic Acid", *Journal of the American Oil Chemist's Society*, v. 87, n. 8, pp. 937-946.

WAGNER, H., LUTHER, R., MANG, T., 2001, "Lubricant Base Fluids Based on Renewable Raw Materials. Their Catalytic Manufacture and Modification", *Applied Catalysis A: General*, v. 221, pp. 429-442.

WANDERLEY, A. M. F., 1999, *Lubrificantes a partir de Óleos Vegetais – Estado da Arte*, Petrobras/CENPES.

WANG, Y., GORDON, M. H., 1991, "Effect of Phospholipids on Enzyme-Catalyzed Transesterification of Oils", *Journal of the American Oil Chemist's Society*, v. 68, n. 8, pp. 588-590.

WHITBY, R. D., 2005, "Understanding the Global Lubricants Business – Regional Markets, Economic Issues and Profitability", *Apostila de Curso*, Oxford, Jun.

WONG W. D., HAMMOND E. G., 1977, "Analysis of Oleate and Linoleate Hydroperoxides in Oxidized Ester Mixtures", *Lipids*, v. 12, pp. 475-479.

WU, G. S., STEIN R. S., MEAD, J. F., 1977, "Autoxidation of Fatty Acid Monolayers Adsorbed on Silica Gel II: Rates and Products", *Lipids*, v. 12, pp. 971-978.

WU, G. S., STEIN R. S., MEAD, J. F., 1977, "Autoxidation of Fatty Acid Monolayers on Silica Gel II: Effect of Saturated Fatty Acids and Cholesterol", *Lipids*, v. 13, pp. 517-524.



WU, X. Y., JÄASKELÄINEN, S., LINKO, Y. Y., 1996, "An Investigation of Crude Lipases for Hydrolysis, Esterification and Transesterification", *Enzyme and Microbial Technology*, v. 19, pp. 226-231.

ZHENG, Y., QUAN, J., NING, X., ZHU, L., JIANG, B., HE, Z., 2009, "Lipase-Catalyzed Transesterification of Soybean Oil for Biodiesel Production in tert-amyl Alcohol", *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, v. 25, n. 1, pp. 41-46.

ZIMMERMANN, H., SCHAAF, E., 1970, "On the Chemistry of Metal-Ion Catalyzed Transesterification Reactions" *J. Prakt. Chem.*, v. 312, pp. 660-668.

## 11. ANEXO 1

De acordo com GUNSTONE e PADLEY, 1997, o modelo cinético para a reação de transesterificação de um éster metílico de ácido graxo segue uma cinética de pseudo-primeira ordem. Este modelo pode ser utilizado na simulação e na predição de efeitos de parâmetros tais como teor de água e de diacilgliceróis, concentração dos reagentes, limitações de transferência de massa e atividade do catalisador, na taxa de reação e no rendimento do produto. O modelo cinético de primeira ordem segue as equações abaixo:

$$-\frac{dC_A}{dt} = kC_A \quad (\text{eq. 1})$$

$$\int_{C_{A0}}^{C_A} -\frac{dC_A}{C_A} = \int_0^t k dt \quad (\text{eq. 2})$$

$$-\ln C_A + \ln C_{A0} = k(t - 0) \quad (\text{eq. 3})$$

$$\ln\left(\frac{C_{A0}}{C_A}\right) = kt \quad (\text{eq. 4})$$

$$C_A = C_{A0} e^{-kt} \quad (\text{eq. 5})$$

onde:  $C_A$  = Concentração de ricinoleato de metila no tempo  $t$  ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ );

$C_{A0}$  = Concentração inicial de ricinoleato de metila ( $\text{mol}/\text{cm}^3$ );

$K$  = taxa da reação ( $\text{s}^{-1}$ ).

Para exemplificar a aplicação deste modelo ao caso de produção de biolubrificante deste estudo, uma análise cinética dos dados experimentais da reação 19 foi efetuada, resultando nas figuras abaixo.

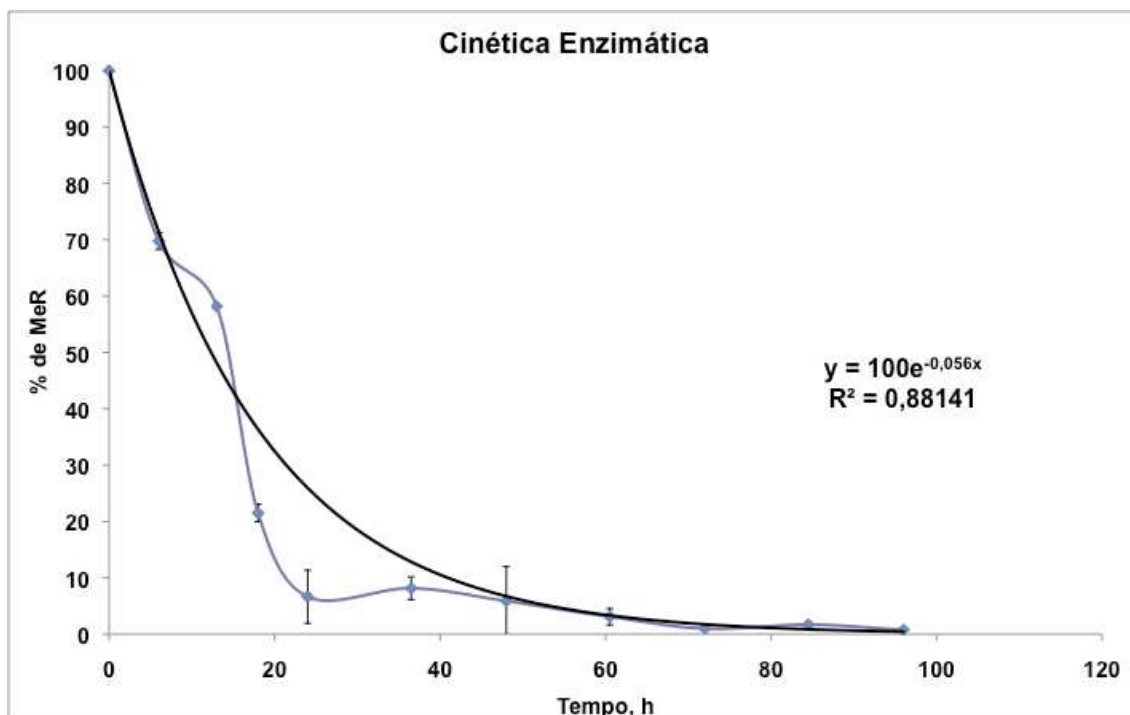


Figura a: Evolução da conversão do ricinoleato de metila (MeR) da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C<sub>água</sub>=1,0%, C<sub>enzima</sub>=4,0%) ao longo do tempo.

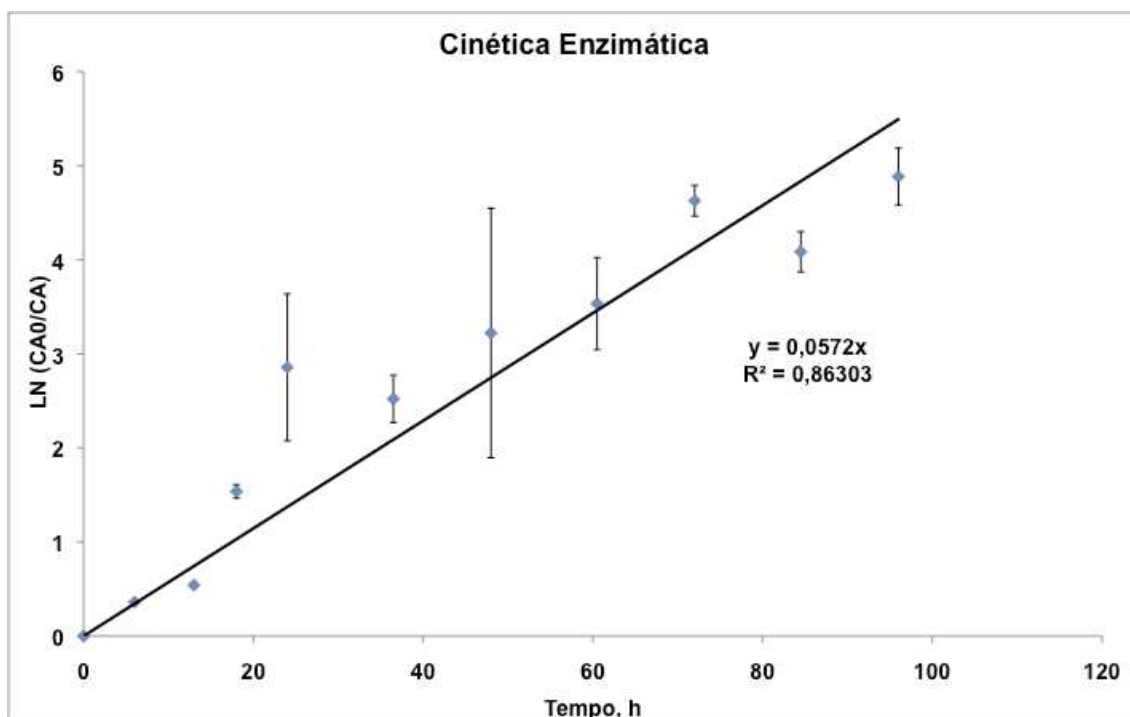


Figura b: Taxas de conversão instantâneas e média da reação 19 (Biod/TMP=3,915:1, T=40°C, C<sub>água</sub>=1,0%, C<sub>enzima</sub>=4,0%) ao longo do tempo.

A taxa de conversão média do ricinoleato de metila em biolubrificantes determinada através deste modelo exponencial foi de  $0,056h^{-1}$ , diferindo da

determinada diretamente da curva de conversão com o tempo ( $3,96h^{-1}$ ), conforme Figura 46 (Página 118). Levaram-se aqui em consideração os dados referentes a todo o tempo de duração da reação (96 horas), embora a reação tenha atingido o equilíbrio após 24 horas, conforme mostrado na Figura 45 (Página 117).