

ACETILAÇÃO ENZIMÁTICA DO BIODIESEL DE *Ricinus communis L.* (MAMONA) VISANDO A REDUÇÃO DE SUA VISCOSIDADE

JOÃO CARLOS COSTA ASSUNÇÃO¹, FRANCISCA ÍTALA DA SILVA PAIVA VALDEVINO¹,
FRANCISCO EDUARDO ARRUDA RODRIGUES¹

¹ Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará - IFCE

<jcassuncao2002@yahoo.com.br> <italavaldevino@gmail.com> <eduardo.ifpb@gmail.com>

DOI: <<https://doi.org/10.21439/conexoes.v14i3.1459>>

Resumo. A redução da viscosidade do biodiesel de mamona (*Ricinus communis L.*) foi estudada através de acetilação enzimática. Foram avaliadas seis variedades de lipases comerciais, Amano Lípase OS de *Burkholderia cepacia* imobilizada em terra diatomácea, lipase de *Candida rugosa*, lipase do pâncreas de porco (PPL), Amano PS, Lipozyme RM e a Novozyme. A enzima selecionada foi a Amano Lipase OS imobilizada. Um planejamento experimental fatorial completo 24 foi elaborado com o intuito de encontrar as melhores condições reacionais. Massa de enzima, temperatura, tipo de solvente e doador de grupo acila foram os parâmetros avaliados. Os fatores de maior impacto foram a massa de enzima e o tipo de solvente, sendo uma massa de 10 mg de enzima e hexano como solvente os que resultaram em rendimentos mais elevados (>99%). A alta temperatura influenciou negativamente. O estudo cinético revelou que a reação enzimática se ajustou a um modelo de pseudo-primeira ordem. As medidas das propriedades físico-químicas para o óleo, biodiesel e biodiesel acetilado revelaram bons resultados e condizentes com os limites estabelecidos pelas normas da ANP, dentre elas estão o teor de umidade, índice de acidez, iodo e massa específica, e para alguns metais, enxofre e fósforo. O principal objetivo da pesquisa foi alcançado, a viscosidade do biodiesel de mamona foi reduzida em cerca de 50% após acetilação.

Palavras-chaves: Biodiesel. . Lipases.

Abstract. The reduction of the viscosity of castor bean biodiesel (*Ricinus communis L.*) was studied through enzymatic acetylation. Six commercial lipase varieties, Amano Lipase OS from *Burkholderia cepacia* immobilized on diatomaceous earth, *Candida rugosa* lipase, pig pancreas lipase (PPL), Amano PS, Lipozyme RM and Novozyme were evaluated. The enzyme selected was the immobilized Amano Lipase OS. A complete factorial experimental design 24 was elaborated with the intention of finding the best reactional conditions. Enzyme mass, temperature, solvent type and acyl donor were the parameters evaluated. The highest impact factors were the enzyme mass and the type of solvent, with a mass of 10 mg of enzyme and hexane as the solvent that resulted in higher yields (> 99%). The high temperature influenced negatively. The kinetic study revealed that the enzymatic reaction conformed to a pseudo first order model. The measurements of the physico-chemical properties for the oil, biodiesel and acetylated biodiesel have shown good results and are in line with the limits established by ANP standards, among them the moisture content, acidity index, iodine and specific mass, and for some metals, sulfur and phosphorus. The main objective of the research was achieved, the viscosity of castor biodiesel was reduced by about 50% after acetylation.

Keywords: Biodiesel. Castor. Lipases.

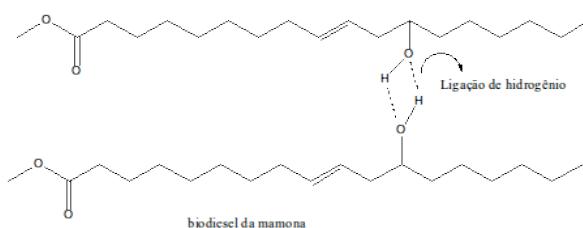
1 INTRODUÇÃO

Ricinus communis L. (mamona) é uma planta da família das euforbiáceas, provavelmente de origem asiática e que foi introduzida no Brasil pelos portugueses. Devido à sua grande adaptabilidade é encontrada em todo o território brasileiro. Como a maior parte das plantas tropicais, sua cultura é bem adaptada às temperaturas compreendidas entre 20 °C e 30 °C, capaz de suportar longos períodos de seca (PINA et al., 2005).

O óleo da mamona é constituído, predominantemente, de triacilgliceróis do ácido ricinoléico que possui uma hidroxila em sua cadeia carbônica levando-o a apresentar propriedades bastante peculiares em relação à grande maioria dos demais óleos vegetais, destacando-se sua viscosidade, propriedade muito relevantes para a indústria de lubrificantes e cosméticos. O biodiesel produzido a partir deste óleo apresenta elevada viscosidade se comparada a de outras oleaginosas, como por exemplo a soja, e fora dos padrões da Agência Nacional de Petróleo (ANP) (CANGEMI; SANTOS; NETO, 2010).

A presença da hidroxila no carbono 12 do ricinolato de metila, éster majoritário no biodiesel de mamona, faz com que esta molécula demonstre propriedades diferenciadas, pois as interações intermoleculares são de natureza diferentes e de maior magnitude que nos demais ésteres alquílicos. Esta atração (Figura 1) resulta em uma maior força de coesão no líquido, mantendo as moléculas mais próximas e fazendo com que o mesmo tenha maior dificuldade de escoamento, resultando em uma maior viscosidade (SILVA et al., 2015).

Figura 1: Interação intermolecular no biodiesel da mamona



Mesmo apresentando viscosidade elevada existem alternativas para o uso do biodiesel de mamona. Duas que podem ser destacadas são a mistura com outros biodiesels de menor viscosidade e a acetilação da hidroxila do carbono 12. Utilizar misturas binárias, apesar de possuir certa eficiência, ainda mantém a dependência de produção de biodiesel a partir de outras oleaginosas (SILVA et al., 2015). Já a acetilação química convencional é inconveniente devido a presença de uma dupla

ligação no carbono 9, que também poderia reagir formando uma diversidade de subprodutos (éster e cetona).

Desta forma, a utilização de catalisadores de maior especificidade e seletividade é uma alternativa para evitar uma diversidade de subprodutos. A seletividade química trata-se da capacidade do catalisador atuar preferencialmente em um tipo de função química, de maneira a possibilitar a acetilação do grupo hidroxila do biodiesel de mamona sem a formação de produtos indesejados, resultando em um combustível com menor viscosidade devido a redução das interações entre as moléculas dos ésteres metílicos (CONTI et al., 2001).

No quesito seletividade e especificidade, as enzimas ocupam lugar de destaque, pois são reconhecidas pela sua capacidade de catalisar uma diversidade de reações mantendo uma grande diferenciação quanto aos substratos sobre os quais operam, mostrando-se um catalisador adequado para minimizar reações laterais. Uma determinada classe de enzimas catalisa apenas um tipo de reação, atuando em regiões específicas das moléculas, podendo perfeitamente realizar uma acetilação de um grupo hidroxila, em presença de outro grupo funcional. As enzimas possuem a vantagem de serem catalisadores biológicos, dessa forma, são totalmente biodegradáveis, não gerando resíduos tóxicos ao meio ambiente. Ainda, as enzimas são encontradas em animais, vegetais e micro-organismos, ampliando com isso as possibilidades de obtenção e uso das mesmas. Sendo assim este trabalho investigou a acetilação seletiva, com uso de enzimas comerciais, do biodiesel da mamona como forma de diminuir sua viscosidade (MACHADO et al., 2008).

2 Metodologia

2.1 Biodiesel de mamona

Misturou-se 1,0 g de hidróxido de potássio (KOH) a 15,0 g de metanol sob agitação constante para formação de metóxido de potássio. Em seguida, esta solução foi misturada a 50,0 g do óleo de mamona. A mistura foi mantida sob agitação por 90 minutos a 60 °C. Ao término da reação de transesterificação o material foi transferido para um funil de decantação e mantido em repouso por alguns minutos até a separação de fases. A fase orgânica foi separada e lavada sucessivamente com água destilada até sua neutralização. Finalmente o material foi levado a estufa para secagem por 60 minutos.

2.2 Obtenção do padrão ricinoleato de metila a partir do biodiesel de mamona

O isolamento do ricinoleato de metila foi realizado por cromatografia gravitacional a partir do biodiesel metílico de mamona. Para tal foi utilizada uma coluna empacotada com gel de sílica 60 ($\phi = 0,025\text{-}0,020\text{mm}$) como adsorvente e um eluente constituído de uma mistura binária hexano e acetato de etila PA na proporção 8:2 (v/v), respectivamente, em modo isocrático.

2.3 Obtenção do padrão ricinoleato de metila acetilado

Foram preparados 40 mL de uma solução contendo anidrido acético/piridina na proporção 4:2 (v/v). Esta solução foi adicionada a um erlenmeyer que continha 2,5 g de ricinoleato de metila que foi mantido sob agitação por 24 horas. Em seguida o material foi colocado em um funil de decantação e adicionada uma solução de sulfato de cobre (CuSO_4) 5%, com o intuito de remover a piridina residual. Após a retirada da fase aquosa, diversas lavagens foram realizadas para remoção do resíduo do sal de cobre. Após esta etapa, a fase orgânica foi concentrada em evaporador rotativo a pressão reduzida e o material resultante foi analisado por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia Gasosa (CG) para verificação da pureza.

2.4 Preparo da curva de calibração

Uma solução estoque de mistura dos ésteres (ricinoleato de metila e ricinoleato de metila acetilado) foi preparada em uma concentração de 1000 mg L^{-1} . Para isto, adicionou-se 50 mg de cada éster em um mesmo balão (50 mL) e aferiu-se o menisco com metanol. A curva analítica foi construída por diluições em balões volumétricos de 5 mL, a partir da solução estoque, nas concentrações de 50, 100, 200, 400 e 800 mg L^{-1} . As soluções padrões foram analisadas em triplicata por CG-DIC.

2.5 Fontes enzimáticas

Na seleção dos catalisadores foram testadas seis enzimas comerciais para verificar qual apresentou o melhor rendimento de conversão na acetilação. As enzimas avaliadas foram: Amano Lípase OS de *Burkholderia cepacia* imobilizada em terra diatomácea, lipase de *Candida rugosa*, lipase do pâncreas de porco (PPL), Amano PS, Lipozyme RM, Novozyme.

O experimento consistiu em adicionar 30 mg de biodiesel, 30 mg de enzima e 4 mL de hexano PA em um

erlenmeyer, submetendo-se a mistura a agitação orbital de 180 rpm por 72 horas. Em seguida foi realizada análise por Cromatografia Gasosa (CG-DIC) para verificação do rendimento.

2.6 Planejamento experimental

O planejamento fatorial foi escolhido por propiciar um estudo das influências de importantes variáveis sobre parâmetros reacionais, sendo as combinações possíveis entre os níveis de cada variável investigadas. Esta ferramenta analisa as variáveis que tem efeitos importantes nas respostas dos experimentos, como os efeitos de um fator variam com os níveis dos outros e permite quantificar as correlações entre as diferentes variáveis.

No presente trabalho foi utilizado o planejamento fatorial completo, com n fatores para apenas dois níveis (experimento fatorial 2^n). Quatro variáveis ($n=4$), massa de enzima, temperatura, solvente e doador de grupo acila, foram avaliadas para uma significância de 0,05 (95% de confiança).

Portanto, o planejamento consistiu de 2^4 (dezesseis) experimentos, com três repetições cada, totalizando 48 experimentos (16×3). Não foram utilizados pontos centrais e extremos. A elaboração e análise dos dados foram efetuadas com software Minitab® versão 17. A Tabela 2 apresenta o referido planejamento. Em todos os experimentos as seguintes condições foram fixadas: 30 mg de óleo de mamona, 10 mL de solvente, 24 horas de reação e 180 rpm de agitação.

2.7 Definição dos valores dos níveis no planejamento

Todos os valores, exceto a massa de enzima, foram fixados baseando-se em dados publicados na literatura. O intervalo de massa da enzima foi fixado entre 2 e 10 mg.

O intervalo de temperatura foi de 30-45 °C, valores baseados em dados da literatura (RAITA; CHAM-PREDA; LAOSIRIPOJANA, 2010). Com relação ao doador de acila (tipo e proporção) e aos solventes foi utilizado como referência o trabalho de Machado et al. (2008). Os solventes selecionados, hexano e éter etílico, também foram baseados nestes trabalhos e os mesmos foram adicionados ao sistema em uma quantidade fixa de 10 mL.

2.8 Estudo cinético

Em um vidro âmbar de 50 mL foi adicionada uma quantidade de 30 mg de ricinoleato de metila, 10 mL

de hexano, 10 mg de enzima e 15 % (525 μ L) do doador de grupo acila sob uma temperatura de 30 °C. Este foi mantido em agitação magnética de 180 rpm por um período de 4 dias. Essas condições foram selecionadas baseadas nos resultados do planejamento experimental. Para a verificação do equilíbrio reacional (rendimento constante) foram realizadas análises no CG-DIC em intervalos de 30 minutos, uma hora, duas horas e doze horas.

2.9 Determinação das propriedades físico-químicas do óleo, biodiesel e biodiesel acetilado da mamona

Todas as propriedades Físico-Químicas, índice de acidez, ácidos graxos livres, iodo, saponificação e teor de umidade, foram adaptadas da metodologia de Adolf Lutz e realizados no Laboratório de Química do IFCE-campus Maracanaú (LUTZ, 1985). Os testes para a determinação dos metais cálcio, magnésio, sódio e potássio e não-metais fósforo e enxofre foram realizados pelo laboratório da Usina de biodiesel da Petrobras de Quixadá-CE. Viscosidade e massa específica foram medidas em um viscosímetro Anton Paar modelo SVM 3000 da Universidade Federal do Ceará.

3 Resultados e discussão

3.1 Obtenção convencional do biodiesel de mamona

O processo de obtenção do biodiesel ocorreu por meio de transesterificação metílica, obtendo-se um rendimento de 77%. Elango et al. (2019) obtiveram rendimentos entre 81-94% em biodiesel de mamona, o que mostra que o presente resultado está próximo a aqueles registrados na literatura, pois o processo ainda não havia sido otimizado. Esta etapa objetivou obter um biodiesel rico em ricinoleato de metila para seu isolamento por cromatografia e utilização como padrão analítico.

3.2 Obtenção dos padrões do ricinoleato de metila e seu acetilado

Os padrões químicos das substâncias ricinoleato de metila (éster metílico do ácido 12-hidroxi-9-octadecenóico) e acetato de ricinoleato de metila (éster metílico do ácido 12-acetiloxi-9-octadecenóico), utilizados nas quantificações das bioacetilações, foram obtidos em grau de pureza superiores a 98%. Portanto, foram padrões adequados para as quantificações dos produtos reacionais.

3.3 Curvas de calibração para os padrões de ricinoleato de metila e seu acetilado

As curvas de calibração para ambos os padrões apresentaram ótima linearidade ($r^2 > 0,99$), indicando que as quantificações no intervalo de concentração utilizado (50 a 800 mg L⁻¹) foram analiticamente eficientes. Isto demonstra que os resultados obtidos pelo método analítico, utilizando CG-DIC, foram seguros. A linearidade compreende a correlação entre a resposta do método e a concentração do analito, podendo ser avaliada pelo coeficiente de determinação r^2 . As equações das curvas de calibração obtidas por regressão linear foram: $y=107426x+3000000$ ($r^2=0,9988$) para ricinoleato de metila e $y=302856x+8000000$ ($r^2=0,9993$) para ricinoleato de metila acetilado.

3.4 Seleção da fonte enzimática

Seis (6) enzimas comerciais, Amano Lipase OS de *Burkholderia cepacia* imobilizada em terra diatomácea, lipase de *Candida rugosa*, lipase do pâncreas de porco (PPL), Amano PS, Lipozyme RM e Novozyme, foram testadas em sua capacidade de catalisar a reação de acetilação do biodiesel metílico de mamona. Os melhores resultados foram obtidos com Amano Lipase OS (90,1%), Amano Lipase OS imobilizada (53,3%) e Lipase de *Candida rugosa* (42,9%). As outras fontes enzimáticas mostraram rendimentos de conversão muito baixos nas condições testadas. Como o processo de imobilização confere maior resistência a estrutura da enzima optou-se selecionar Amano Lipase OS imobilizada para os estudos subsequentes, apesar desta ter apresentado uma conversão inferior a da Amano Lipase OS. Contudo, a próxima etapa do estudo foi a otimização das condições reacionais em busca de melhorar o rendimento de conversão. Os resultados encontram-se ilustrados na Tabela 1.

Tabela 1: Rendimento de conversão da acetilação do ricinoleato de metila

Enzima	Rendimento de acetilação (%)
Amano Lipase PS imobilizada	53,3
Amano Lipase OS	90,1
Lipase de <i>Candida rugosa</i>	42,9
Lipozyme RM	-
Novozyme	4,1
PPL	1,2

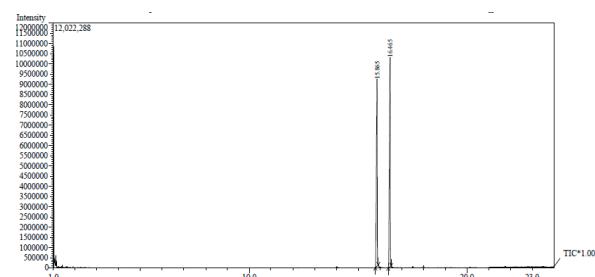
Qualquer que seja o método de imobilização enzimático, deseja-se preservar, tanto quanto possível, a atividade biocatalítica e a especificidade. Este fato justifica a escolha da enzima amano lipase PS imobilizada

ACETILAÇÃO ENZIMÁTICA DO BIODIESEL DE *Ricinus communis L.* (MAMONA) VISANDO A REDUÇÃO DE SUA VISCOSIDADE nos experimentos seguintes (GOMES et al., 2006).

Segundo Tiosso et al. (2014) a mesma enzima também apresentou melhor desempenho que Novozym 435, bastante citada na literatura. No mesmo trabalho, o pior desempenho foi observado para Lipozyme TL IM, semelhante aos resultados obtidos no presente estudo.

Na Figura 2 é possível observar o cromatograma obtido por Cromatografia Gasosa acoplada a Espectrometria de Massa (CG-EM) do produto de acetilação enzimática do biodiesel de mamona catalisada por Amano Lipase PS imobilizada.

Figura 2: Cromatograma CG-EM do produto de acetilação enzimática com Amano Lipase PS imobilizada



3.5 Planejamento experimental

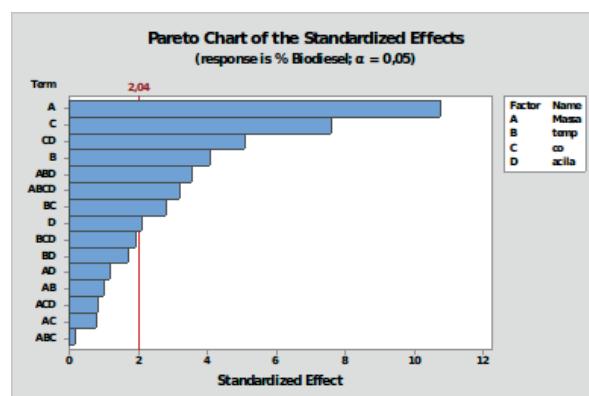
Na Tabela 2 são apresentados os resultados do planejamento experimental elaborado para esse trabalho.

Pelos dados expostos na Tabela 2 observa-se condições reacionais que conduziram a rendimentos próximos ao máximo (99,9%), indicando que a busca pelas condições ótimas da enzima seguiu o caminho correto. As combinações que levaram aos melhores rendimentos foram: 1) massa enzimática de 10 mg, temperatura de 30 C, solvente éter etílico e doador de grupo acila a 15%; 2) massa enzimática de 10 mg, temperatura de 30 C, solvente hexano e doador de grupo acila a 5%. A quantidade de catalisador e a temperatura foram determinantes. Comprova-se que solventes apolares, tais como hexano e éter etílico, maximizam a ação enzimática (SALUM et al., 2010). Porém, devido a elevada volatilidade éter etílico levou a rendimentos muito baixos em alguns experimentos, principalmente aqueles conduzidos a temperaturas mais altas. Portanto, sugere-se hexano como melhor solvente para esta reação. Para a proporção de doador acila não houve diferença significativa, sugerindo que 5% seria conveniente por uma questão de economia.

Através do gráfico de Pareto (Figura 3) é possível verificar quais fatores foram significantes para o experimento. Novamente, observou-se que, independentemente,

massa de enzima e o tipo de solvente foram os fatores que mais impactaram no rendimento da reação. A massa de enzima, o fator de maior impacto, deve ser aumentada para se atingir os rendimentos máximos. A temperatura também foi significante, porém a combinação dos fatores tipo de solvente e proporção de doador acila foi superior. Isoladamente, a proporção de doador de acila não influenciou significativamente no rendimento reacional. A combinação dos quatro fatores também foram relevantemente significante para o experimento, comprovando que um estudo clássico, onde as variáveis são testadas individualmente sobre as melhores condições reacionais, deve ser modelado via um planejamento experimental completo.

Figura 3: Gráfico de Pareto para as variáveis estudadas nos experimentos



Os efeitos principais podem ser interpretados individualmente apenas quando as interações não são significativas. Caso sejam significativas, as hipóteses devem ser construídas e analisadas considerando os níveis de um fator dentro de cada nível do outro. Quando há interação não-significativa duas retas paralelas, sem interseção de variáveis, são verificadas (RODRIGUES; IEMMA, 2005).

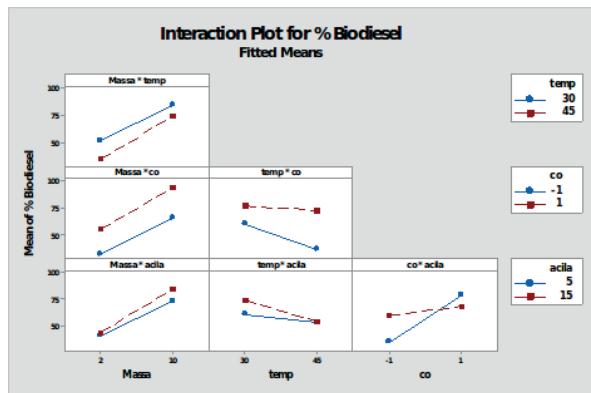
A partir dos gráficos da Figura 4 foi possível verificar a influência, par a par, entre as variáveis significantes no planejamento. Ainda pode-se confirmar se a influência do fator foi positiva ou negativa para o rendimento reacional. Na Figura 4 a abreviatura "co" representa o tipo de solvente e os símbolos números -1 hexano e 1 éter etílico. A massa de enzima (Figuras 4a, 4b e 4c), o fator mais significante, influenciou diferentemente os resultados de acordo com a interação de outras variáveis. A correlação da massa de enzima com a temperatura (Figura 4a) demonstrou que a 30°C os rendimentos foram superiores aos obtidos a 45°C. Já o hexano como solvente levou a melhores resultados (Fi-

Tabela 2: Planejamento Fatorial das condições e os resultados em rendimento

Massa enzima	Temperatura	Solvente	Grupo Acila	% Biodiesel acetilado
2	30	Éter etílico	5	18,61
10	30	Éter etílico	15	99,9
10	30	Éter etílico	5	54,04
2	45	Éter etílico	15	8,98
10	45	Éter etílico	5	34,64
2	30	Hexano	15	58,93
2	45	Éter etílico	15	12,08
10	45	Hexano	15	85,57
2	30	Éter etílico	5	21,96
2	30	Éter etílico	15	91,95
2	30	Hexano	5	60,06
10	45	Hexano	5	96,22
2	45	Hexano	5	54
10	30	Hexano	15	95,22
2	30	Hexano	5	63,18
10	30	Hexano	5	98,77
10	45	Éter etílico	5	36,48
2	30	Hexano	15	40,09
2	30	Éter etílico	15	90
10	30	Hexano	15	91,1
2	30	Hexano	15	58,99
2	30	Éter etílico	5	16,18
10	45	Éter etílico	15	76,81
10	30	Éter etílico	5	61,49
10	45	Éter etílico	15	70,39
10	30	Éter etílico	15	76,63
10	30	Hexano	5	99,9
10	30	Hexano	15	80,4
10	45	Hexano	5	98,54
2	45	Éter etílico	5	22,87
2	45	Éter etílico	5	25,87
2	45	Hexano	5	39,32
10	45	Éter etílico	15	81,52
2	30	Éter etílico	15	32,81
10	45	Hexano	5	93,44
10	30	Éter etílico	5	78,09
2	45	Hexano	5	77,33
10	45	Hexano	15	95,73
10	30	Éter etílico	15	78,09
2	45	Éter etílico	5	32
10	45	Éter etílico	5	33,15
10	45	Hexano	15	86,15
2	45	Éter etílico	15	6,76
2	30	Hexano	5	66,84
2	45	Hexano	15	37,43
10	30	Hexano	5	99,8
2	45	Hexano	15	46,32
2	45	Hexano	15	51,89

guras 4b e 4d). A percentagem de doador acila apresentou rendimento levemente superior quando se utilizou 15% do mesmo (Figuras 4c, 4e e 4f).

Figura 4: Gráfico de interações entre as variáveis estudadas nos experimentos



Também pela Figura 4 foi possível observar que a temperatura influenciou negativamente no rendimento reacional (Figuras 4a, 4d e 4e). Portanto, temperaturas mais brandas são mais convenientes para as enzimas. Esta constatação já foi relatada na literatura, uma vez que temperaturas altas tendem a desnaturar enzimas (MACHADO et al., 2008).

O tipo de solvente também é um fator determinante para a ação enzimática, sendo o hexano o que levou a rendimentos mais elevados neste estudo. Solventes apolares tendem a resultar em melhores rendimentos por não danificar a camada de hidratação da enzima, essencial para sua atuação, diferente dos polares (SALUM et al., 2010).

3.6 Propriedades físico-químicas do óleo, biodiesel e biodiesel acetilado

A qualidade do biodiesel, e de sua matéria-prima (óleo), foi avaliada através de parâmetros físico-químicos que determinam certas propriedades que podem influenciar na queima do combustível, no desempenho do motor, na segurança do transporte e no seu manuseio.

Com o intuito de verificar a qualidade dos produtos estudados, óleo, biodiesel e biodiesel acetilado, bem como averiguar seu enquadramento nas normas reguladoras, foram determinadas as seguintes propriedades Físico-Químicas: viscosidade, massa específica, índice de acidez, índice de iodo, índice de saponificação, ácidos graxos livres, teor de umidade e de alguns metais, conforme mostra a Tabela 3.

Diversos trabalhos relatam que a viscosidade é de suma importância para a qualidade dos biocombustíveis, afetando diretamente a combustão no motor. Um dos principais objetivos do trabalho foi buscar um método para a redução da viscosidade do biodiesel de mamona. O óleo de mamona apresenta uma viscosidade altíssima, devido principalmente as hidroxilas presentes em sua cadeia carbônica, sendo verificado neste trabalho um valor de 259,8 mm²/s à 40 °C. Em estudos sobre as especificações de alguns óleos vegetais das cultivares BRS-149 Nordestina foi encontrada uma viscosidade de 210,2 mm²/s para o óleo de mamona a uma temperatura de 40 °C (COSTA, 2006). Neto et al. (1999) verificaram uma viscosidade de 285 mm²/s à 37,8 °C, muito similar ao encontrado no presente estudo.

Quanto ao biodiesel de mamona França et al. (2008) encontraram uma viscosidade de 14,98 mm²/s resultado análogo ao reportado no presente trabalho, 15,4 mm²/s à 40 °C, porém ainda bastante elevado se comparado ao limite estabelecido pela ANP que é de 3,0 a 6,0 mm²/s à 40 °C. Outro trabalho relevante foi publicado por Dabdoub, Bronzel e Rampin (2009), que encontraram 13,82 mm²/s para a viscosidade a 40 °C do biodiesel de mamona. Mesmo após a transesterificação do óleo ainda se observa uma alta viscosidade, que poderá reduzir a atomização do combustível, causar formação excessiva de depósitos no sistema de injeção e dificultar o bombeamento.

A acetilação enzimática do biodiesel de mamona alcançou seus objetivos, reduzindo em mais de 60% a viscosidade do mesmo, além de apresentar um excelente rendimento reacional (>99,9%) nas condições ótimas. Apesar do que foi exposto, a viscosidade ainda se mostrou acima do limite exigido pela legislação (6,0 mm²/s) sendo 9,8 mm²/s, à 40 °C, o valor obtido.

Zuñiga et al. (2011) encontraram uma massa específica para o biodiesel de mamona de 0,917 g/cm³ a 20 °C, semelhante ao que foi obtido no presente estudo para o biodiesel (0,926 g/cm³) e biodiesel acetilado (0,939 g/cm³) na mesma temperatura.

De acordo com a ANP o biodiesel não pode apresentar um índice de acidez maior que 0,50 mgKOH/g, indicando que o resultado obtido (0,39 mgKOH/g) foi satisfatório, bem abaixo do limite indicado pelas normas. Já o biodiesel acetilado apresentou acidez, 1,15 mgKOH/g, acima das normas. A elevada acidez apresentada pode estar relacionado a uma possível oxidação do material. Valores de referência podem ser ilustrado pelo trabalho de Moura (2010), que encontrou índice de acidez para o biodiesel do pinhão manso de 0,55 mgKOH/g.

Tabela 3: Propriedades Físico-Químicas do óleo, biodiesel e biodiesel acetilado de mamona

Propriedades	Método	Óleo	Biodiesel	Biodiesel Acetilado	ANP (Limite)
Viscosidade (mm ² /s) à 40C	ASTMD 445	259,8	15,4	9,8	3,0 a 6,0
Massa Específica à 20C (Kg/m)	ASTMD 4052	926	961	939	850 a 900
Índice de acidez (mgKOH/g)	EN 14104	3,95	0,39	1,15	0,5
Ácidos Graxos Livres (%)	-	21	2,1	6,1	0,2
Índice de Saponificação (mgKOH/g)	-	361	-	-	-
Índice de Iodo (g de iodo/100g)	EN 14111	-	16,86	27,31	Anotar
Teor de Umidade (%)	-	0,138	-	-	200
Enxofre Total (mg/kg)	ASTMD 4737	-	4,9	7,4	10
Na + K (mg/kg)	EN 14108 EN 14109 EN 14538	1,04	9,63	0,1	5
Ca + Mg (mg/kg)	EN 14538	0,31	0,5	<LD	5
Fósforo (mg/kg)	EN 14107 EN 16294	0,06	<LD	0,03	10

De acordo com as normas da ANP o valor permitido para ácidos graxos livres é de 0,2%, portanto, os resultados para o biodiesel (2,1%) e o biodiesel acetilado (6,1%) encontram-se acima do limites. O teor de ácidos graxos livres foi muito elevado para o óleo de mamona, resultado que reflete dados da literatura e que possivelmente se deve a degradação oxidativa das insaturações de suas cadeias carbônicas.

O índice de saponificação (IS) é definido como o número de miligramas de hidróxido de potássio (KOH) ou de hidróxido de sódio (NaOH) necessários para neutralizar os ácidos graxos resultantes da hidrólise de 1,0 g de óleo. No trabalho de Moura (2010) o óleo de pinhão manso apresentou IS de 192,18 mgKOH/g, já o óleo de fritura 188,50 mgKOH/g. O IS encontrado neste trabalho, 360,9 mgKOH/g, se mostrou superior aos citados anteriormente, indicando relevante nível de deterioração do óleo de mamona utilizado.

O índice de iodo encontrado para do biodiesel de mamona foi de 16,86 gI₂/100g e para biodiesel acetilado de 27,31 gI₂/100g. De acordo com Moura (2010) quanto maior o índice de iodo, maior será o número de insaturações e, consequentemente, instabilidade oxidativa do óleo vegetal e de seu biodiesel será elevada.

Altos teores de umidade também podem acarretar em desativação do catalisador básico, por propiciar a maior formação de ácidos graxos livres, e promover reações de saponificação. O teor de umidade de 0,138% encontrado para o óleo de mamona foi semelhante ao de 0,19% relatado por Fagundes et al. (2005).

De acordo com a resolução ANP Nº 51 DE 25/11/2015, o limite máximo no biodiesel para os parâmetros Na + K e Ca + Mg é de 5 mg kg⁻¹, e para

enxofre e fósforo de 10 mg kg⁻¹. Estes limites devem ser respeitados para que o combustível seja considerado conforme. Somente o biodiesel obtido por catálise básica, utilizando hidróxido de sódio, demonstrou um parâmetro fora da norma, o teor Sódio + Potássio (9,63 mg kg⁻¹). Por outro lado, o biodiesel acetilado apresentou teor de metais bem abaixo do limite da ANP, indicando ser um biocombustível pouco corrosivo. Portanto, pode-se inferir que é possível a produção de biodiesel em larga escala através desse óleo, desse modo contribuindo para a preservação ambiental e buscando formas eficazes e eficientes para o seu uso.

4 Considerações Finais

O resultado do planejamento experimental permitiu a obtenção dos gráficos de Pareto e de interações, os quais indicaram que a massa de enzima (10 mg) e o tipo do cósolvente são variáveis significativas e ambos com influência positiva. O estudo cinético e otimização contribuíram de forma significativa para que o objetivo do trabalho fosse alcançado.

Uma conversão quase que total (99,90%) na acetilação enzimática do biodiesel de mamona foi verificada na otimização das condições reacionais pelo planejamento experimental, indicando que a metodologia foi eficiente em minimizar os gastos, com reagentes e tempo, e ainda resultar em um excelente rendimento reacional.

O estudo cinético permitiu, ainda, determinar que a reação de acetilação enzimática segue um modelo de pseudo-primeira ordem.

Diante dos resultados obtidos, pode-se inferir que

ACETILAÇÃO ENZIMÁTICA DO BIODIESEL DE *Ricinus communis L.* (MAMONA) VISANDO A REDUÇÃO DE SUA VISCOSIDADE

é possível produzir um biodiesel de melhor qualidade através do óleo de mamona e subsequente acetilação enzimática, produzindo um produto de menor viscosidade. Propriedades como o índice de acidez e saponificação e algumas amostras de metais (somente nas amostras de óleo foi o Sódio = 0,459 e de biodiesel com o Cálcio = 0,323 e Sódio = 4,072 que ficaram acima das normas) se mostraram fora do estabelecido pela norma brasileira, já a viscosidade, que mesmo sendo reduzida em 50%, ainda se apresentou fora dos padrões. Outras propriedades como teor de umidade, massa específica, iodo, acidez, teor de metais, fósforo e enxofre estão dentro das normas expostas na ANP, somente o potássio do biodiesel encontrasse acima do proposto. Contudo, pode-se inferir que é possível a produção de biodiesel em larga escala através desse óleo, desse modo contribuindo para a preservação ambiental e buscando formas eficazes e eficientes para o seu uso.

A acetilação química, além de gerar subprodutos, muitas vezes faz uso de reagentes de alto custo e tóxicos. Por isso, o uso de enzimas como catalisadores torna-se viável, tendo em vista que são biomoléculas catalíticas com alta seletividade e atuam em condições normais de temperatura e pressão, reduzindo drasticamente a possibilidade da formação de subprodutos. Ainda, as enzimas são totalmente biodegradáveis, contribuindo com isso para a consolidação de processos mais limpos; podem ser utilizadas mesmo quando a matéria prima apresenta índice de acidez elevado; necessitam de baixo consumo energético; apresentam alta especificidade, facilitando a separação dos produtos; e podem ser reutilizadas quando na forma imobilizada.

REFERÊNCIAS

CANGEMI, J. M.; SANTOS, A. M.; NETO, S. C. A revolução verde da mamona. **Química Nova na Escola**, v. 32, n. 1, p. 1–6, 2010.

CONTI, R.; RODRIGUES, J. A. R.; MORAN, P. J. et al. Biocatálise: avanços recentes. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 24, n. 5, p. 672–675, 2001.

COSTA, T. L. **Características Físicas e Físico-Químicas do óleo de duas cultivares de mamona**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) — Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande, 2006. 113 f.

DABDOUB, M. J.; BRONZEL, J. L.; RAMPIN, M. A. Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 776–792, 2009.

ELANGO, R. K.; SATHIASIVAN, K.; MUTHUKUMARAN, C.; THANGAVELU, V.; RAJESH, M.; TAMILARASAN, K. Transesterification of castor oil for biodiesel production: Process optimization and characterization. **Microchemical Journal**, Elsevier, v. 145, n. 1, p. 1162–1168, 2019.

FAGUNDES, F. P.; BEZERRA, J. P.; GARCIA, M. A.; MEDEIROS, A. C. R.; BORGES, M. R.; GARCIA, R. B.; COSTA, M. Avaliação das propriedades do óleo de mamona na produção de biocombustível. In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE P&D EM PETRÓLEO E GÁS**. Salvador: IBP/UNIFACS, 2005. v. 3.

FRANÇA, B. B.; PINTO, F. M.; PESSOA, F. L. P.; ULLER, A. M. C. Liquid- liquid equilibria for castor oil biodiesel+ glycerol+ alcohol. **Journal of Chemical & Engineering Data**, ACS Publications, v. 54, n. 9, p. 2359–2364, 2008.

GOMES, F. M.; PAULA, A. V. de; SILVA, G. d. S.; CASTRO, H. F. de. Determinação das propriedades catalíticas em meio aquoso e orgânico da lipase de candida rugosa imobilizada em celulignina quimicamente modificada por carbonildiimidazol. **Química Nova**, SciELO Brasil, v. 29, n. 4, p. 710–718, 2006.

LUTZ, A. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz, Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**. 3. ed. São Paulo: IMESP, 1985. v. 1. P. 266.

MACHADO, L. L.; LEMOS, T. L.; MATTOS, M. C. de; CONCEIÇÃO, F. Maria da; GONZALO, G. de; GOTOR-FERNÁNDEZ, V.; GOTOR, V. Immobilized manihot esculenta preparation as a novel biocatalyst in the enantioselective acetylation of racemic alcohols. **Tetrahedron: Asymmetry**, Elsevier, v. 19, n. 12, p. 1419–1424, 2008.

MOURA, B. S. **Transesterificação Alcalina de Óleos Vegetais para Produção de Biodiesel: Avaliação Técnica e Econômica**. Dissertação (Dissertação em Engenharia Química) — Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2010. 166 f.

NETO, P. C.; ROSSI, L. F.; ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química nova**, v. 23, n. 4, p. 531–537, 1999.

ACETILAÇÃO ENZIMÁTICA DO BIODIESEL DE *Ricinus communis L.* (MAMONA) VISANDO A REDUÇÃO DE SUA VISCOSIDADE

PINA, M.; SEVERINO, L. S.; BELTRÃO, N. E.; VILLENEUVE, P.; LAGO, R. Novas alternativas de valorização para dinamizar a cultura da mamona no brasil. **Cadernos de Ciência & Tecnologia**, v. 22, n. 2, p. 453–462, 2005.

RAITA, M.; CHAMPREDA, V.; LAOSIRIPOJANA, N. Biocatalytic ethanolysis of palm oil for biodiesel production using microcrystalline lipase in tert-butanol system. **Process Biochemistry**, Elsevier, v. 45, n. 6, p. 829–834, 2010.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos – Uma estratégia sequencial de planejamentos**. 1. ed. Campinas: Ed Casa do Pão, 2005.

SALUM, T. F. C.; VILLENEUVE, P.; BAREA, B.; YAMAMOTO, C. I.; CÔCCO, L. C.; MITCHELL, D. A.; KRIEGER, N. Synthesis of biodiesel in column fixed-bed bioreactor using the fermented solid produced by burkholderia cepacia lteb11. **Process Biochemistry**, Elsevier, v. 45, n. 8, p. 1348–1354, 2010.

SILVA, J. A. C.; SOARES, V. F.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; HABERT, A. C.; FREIRE, D. M. Enzymatic production and characterization of potential biolubricants from castor bean biodiesel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Elsevier, v. 122, n. 1, p. 323–329, 2015.

TISSO, P.; CARVALHO, A.; CASTRO, H. D.; MORAES, F. d. de; ZANIN, G. Utilization of immobilized lipases as catalysts in the transesterification of non-edible vegetable oils with ethanol. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, SciELO Brasil, v. 31, n. 4, p. 839–847, 2014.

ZUÑIGA, A. D. G.; PAULA, M. M.; COIMBRA, J. S. d. R.; MARTINS, E. C. A.; SILVA, D. X. d.; TELIS-ROMERO, J. Revisão: propriedades físico-químicas do biodiesel. **Pesticidas**, v. 21, n. 1, p. 55–72, 2011.