



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas. UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Alfenas/MG. CEP 37130-000
Fone: (35) 3299-1000. Fax: (35) 3299-1063
Instituto de Química



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

GUILHERME JOSÉ SABI

**PRODUÇÃO DE BIOPLASTIFICANTES EMPREGANDO DIFERENTES
CATALISADORES (ENZIMÁTICOS E QUÍMICO) E APLICAÇÃO NA
PREPARAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS**

ALFENAS – MG

2022

GUILHERME JOSÉ SABI

**PRODUÇÃO DE BIOPLASTIFICANTES EMPREGANDO DIFERENTES
CATALISADORES (ENZIMÁTICOS E QUÍMICO) E APLICAÇÃO NA
PREPARAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS**

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de Concentração: Química Orgânica.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes

Coorientador: Prof. Dr. Washington Azevêdo da Silva

ALFENAS - MG

2022

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Sabi, Guilherme José.

Produção de bioplastificantes empregando diferentes tipos de catalisadores (enzimáticos e químico) e aplicação na preparação de filmes poliméricos / Guilherme José Sabi. - Alfenas, MG, 2022.

104 f. : il. -

Orientador(a): Adriano Aguiar Mendes .

Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2022.

Bibliografia.

1. Bioplastificantes . 2. Óleos vegetais . 3. Ésteres decílicos . 4. Epoxidação . 5. Filmes de PVC. I. Mendes , Adriano Aguiar , orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

GUILHERME JOSÉ SABI

“PRODUÇÃO DE BIOPLASTIFICANTES EMPREGANDO DIFERENTES CATALISADORES (ENZIMÁTICOS E QUÍMICO) E APLICAÇÃO NA PREPARAÇÃO DE FILMES POLIMÉRICOS”

A Banca examinadora abaixo-assinada aprova a Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Química pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Química Orgânica.

Aprovado em: 29 de julho de 2022

Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes
Instituição: Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL)

Profa. Dra. Nádia Krieger
Instituição: Universidade Federal do Paraná (UFPR)

Prof. Dr. Paulo Waldir Tardioli
Instituição: Universidade Federal de São Carlos (UFSCAR)



Documento assinado eletronicamente por **Adriano Aguiar Mendes, Professor do Magistério Superior**, em 29/07/2022, às 17:25, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **NADIA KRIEGER, Usuário Externo**, em 29/07/2022, às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Paulo Waldir Tardioli, Usuário Externo**, em 29/07/2022, às 17:26, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **0783626** e o código CRC **CCA6F86A**.

Dedico este trabalho a todos aqueles leitores que buscam beber da fonte do conhecimento e acreditam no poder da educação. Como ela pode mudar a vida de uma pessoa e a realidade de um país.

AGRADECIMENTOS

A Deus, força universal e ser supremo, sempre abrindo meus caminhos e me ensinando a superar minhas limitações.

A minha mãe, Adélia, que sempre me motivou a ir buscar o conhecimento e a realizar meus sonhos. É meu porto seguro e por quem tenho minha eterna admiração. Uma verdadeira Heroína. Se hoje estou aqui escrevendo essas palavras é pela fé depositada em mim.

Ao Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes, amigo, professor, orientador e mestre. Por todo o suporte acadêmico, dedicação, paciência e confiança atribuída a mim para realização deste projeto. Por todas nossas conversas sobre projetos acadêmicos e sobre a vida. Muitas das vezes começavam no laboratório de Bioprocessos e se estendiam ao lado de uma cerveja e de boas risadas.

Ao Prof. Dr. Washington Azevêdo da Silva, meu coorientador. Extremamente prestativo, sanando dúvidas e abrindo as portas do seu laboratório para realização dos experimentos.

Aos meus colegas do grupo de pesquisa do Laboratório de Bioprocessos e de Catálise Enzimática que se dispuseram a ajudar, em especial a Rafaela Gama que esteve em parceria comigo para a realização de parte desse projeto. Sem vocês a rotina diária no laboratório não teria a menor graça.

Aos meus amigos que estão comigo nesta caminhada que é a vida. As vezes perto, as vezes do outro lado do Atlântico... Amigos que eu levo nestas páginas juntamente com as boas lembranças e momentos que não serão esquecidos.

Ao instituto de Química da Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) e a Universidade Federal de Alfenas pela oportunidade de realizar o presente trabalho, infraestrutura e amparo acadêmico.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

Meu muito obrigado a todos vocês!

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de Financiamento 001.

O autor também agradece à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (Processo APQ-01691-21) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processos 404929/2016-8 e 310633/2020-6) pelo suporte financeiro.

Na natureza nada se cria nada se perde, tudo se transforma.

(ANTONIE LAVOISIER, 1789).

RESUMO

O objetivo principal deste estudo foi a produção de compostos com propriedades plastificantes a partir óleos vegetais e seus derivados (ésteres decílicos) para aplicação na produção de filmes de poli(cloreto de vinila). O trabalho experimental proposto foi dividido em duas principais etapas. Na primeira etapa, foi realizada a produção de ésteres decílicos via hidroesterificação enzimática dos óleos de soja refinado (OSR) e de fritura (OF). Este processo consiste na sequencial hidrólise enzimática dos óleos catalisada por lipase de *Candida rugosa* (LCR) e esterificação dos ácidos graxos obtidos (AGL) em meio isento de solventes. Na etapa de esterificação, o biocatalisador heterogêneo foi preparado por adsorção física de lipase de *Thermomyces lanuginosus* (LTL-SiO₂) em partículas de sílica de casca de arroz. De acordo com os resultados, completa hidrólise dos óleos foi observada após 180 min de reação. Máxima conversão dos AGL da ordem de 86%, foi observada após 90-150 min de reação. O biocatalisador preparado reteve 10% e 40% de sua atividade residual após 15 bateladas sequenciais de esterificação empregando AGL de óleo de fritura e óleo de soja refinado, respectivamente. Na segunda etapa, diferentes materiais com propriedades plastificantes foram produzidos via epoxidação *in situ* de óleos vegetais (OSR e OF) e seus derivados (ésteres decílicos) empregando catalisadores químicos como H₂O₂ e ácido fórmico. Os materiais epoxidados foram utilizados como plastificantes na preparação de filmes de PVC (via processo casting). Nas condições reacionais testadas, parcial conversão das duplas ligações presentes na estrutura dos ácidos graxos entre 32,5%-36,4% e 42% para os óleos vegetais e ésteres decílicos, respectivamente, foram obtidos. A porcentagem de grupos epóxi introduzidos (IE_{exp.}) foi de apenas 2% para todas as amostras testadas. Por outro lado, a seletividade do processo de epoxidação foi da ordem de 85%, exceto para o óleo de fritura epoxidado (70,1%). Os filmes de PVC foram preparados e aqueles obtidos com óleos vegetais epoxidados apresentaram aparentemente maior flexibilidade e transparência. As estratégias propostas neste trabalho podem ser bastante promissoras na preparação de ésteres com propriedades plastificantes a partir de matérias-primas renováveis empregando catalisadores biológicos (lipases) e químicos (H₂O₂ e ácido fórmico) para a produção de filmes poliméricos (PVC) de grande interesse industrial.

Palavras-chave: Bioplastificantes, Óleos vegetais, Ésteres decílicos, Epoxidação, Filmes de PVC.

ABSTRACT

The main objective of this work was to produce bioplasticizers from vegetable oils such as refined soybean oil (RSO), used soybean cooking oil (USCO) and their derivatives (decyl esters) aimed at preparing poly (vinyl chloride) films. Two main steps were proposed for the present experimental work. In the initial step, was consisted in producing decyl esters via enzymatic esterification of RSO and USCO. The process involved a sequential step of enzymatic oils hydrolysis using crude lipase extract from *Candida rugosa* (CRL) as catalyst and then the produced FFA was esterified in a solvent-free medium. For such a purpose, lipase from *Thermomyces lanuginosus* physically adsorbed on rice husk silica particles (TLL-SiO₂) was used as heterogeneous biocatalyst and exhibited an immobilized protein concentration of around 28 mg g⁻¹ of support at fixed initial protein loading (40 mg g⁻¹ of support). Complete oils hydrolysis has been achieved after 180 min of reaction and maximum FFA conversion percentage of around 86% has been reached after 90-150 min of reaction. The resulting biocatalyst retained only 10% and 40% of its residual activity after 15 successive esterification batches using FFA from USCO and RSO, respectively. In the second step, different materials having plasticizing properties were produced via epoxidation *in situ* of vegetable oils (RSO and USCO) and their derivatives (decyl esters) using chemical catalysts (H₂O₂/formic acid). Epoxidized materials were then used as bioplasticizers to prepare flexible PVC films via a casting process. Results indicate that there was a partial conversion of double bonds into oxirane groups of 32.5%-36.4% and 42% for vegetable oils and decyl esters, respectively. The percentage of introduced epoxy groups (IE_{exp.}) was only 2% for all samples tested. On the other hand, their selectivity was around 85%, except for epoxidized USCO (70,1%). PVC films were prepared and those obtained using epoxidized vegetable oils apparently showed greater flexibility and transparency. Moreover, these strategies can be quite promising for producing several bioplasticizers from renewable raw materials (RSO and USCO) through a chemoenzymatic process for further preparation of polymeric films (PVC) of industrial interest.

Keywords: Bioplasticizers, Vegetable oils, Decyl esters, Epoxidation, PVC films.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Representação esquemáticas das três teorias de plastificação consolidadas	30
Figura 2 - Representação de uma reação de epoxidação catalisada por lipase.....	39
Figura 3 - Representação da reação química do processo de transesterificação	41
Figura 4 - Esquema representativo da hidrólise enzimática de triacilgliceróis (OSR eOF) extrato bruto em pó de LCR (a) e esterificação dos AGL obtidos com decanol empregando LTL-SiO ₂ (b).....	59
Figura 5 - Efeito do carregamento da LCR na hidrólise do OSR. A reação de hidrólise foi realizada sob velocidade de agitação mecânica de 1000 rpm, 35 ° C e razão de massa óleo / água de 50%.....	66
Figura 6 - Efeito da temperatura da reação na hidrólise do OSR. As reações foram realizadas sob velocidade de agitação mecânica de 1000 rpm, carga inicial de LCR de 50U / g de mistura de reação e razão de massa óleo / água de 50%.....	67
Figura 7 - Efeito da velocidade de agitação mecânica na hidrólise do OSR. As reações foram realizadas sob carga inicial de 40 U / g de mistura de reação, 40 ° C e relação de massa óleo / água de 50%.....	68
Figura 8 - Efeito da razão de massa óleo / água na hidrólise enzimática da OF. As reações foram realizadas sob carga inicial de 40 U / g de mistura de reação, 40 ° C e velocidade de agitação mecânica de 1500 rpm.	69
Figura 9 - Esquema representativo de imobilização via adsorção de LTL em partículas de SiO ₂ de casca de arroz em tampão acetato de sódio (pH 5,0) empregando baixa força iônica (5 mmol L ⁻¹).	71
Figura 10 - Efeito do tempo de reação de esterificação do AGL do OSR (a) e OF (b) catalisado por LTL livre e LTL-SiO ₂	73

Figura 11 - Testes de reuso em sistemas de bateladas consecutivas de reação de esterificação de AGL de óleo de soja refinado (a) e de fritura (b) com decanol catalisado por LTL-SiO ₂	75
Figura 12 - (a1) TGA e DTG óleo de soja refinado (b2) TGA e DTG óleo de soja e fritura/ (a1) DSC óleo de soja de refinado (b2) DSC óleo de soja de fritura.....	76
Figura 13 - Esquema representativo de produção de ésteres decílicos via hidroesterificação de OSR e OF e epoxidação <i>in situ</i> empregando ácido fórmico.....	84
Figura 14 - Esquema representativo de epoxidação <i>in situ</i> de OSR e OF empregando ácido fórmico.....	85
Figura 15 - Mecanismo de epoxidação de óleos vegetais e ésteres decílicos.....	95
Figura 16 - Ilustração do processo de lavagem e separação das amostras epoxidadas obtidas com OSR (A) e OSRE (B).	96
Figura 17 - Ilustração das amostras de óleos vegetais – OSR e OF (A) e ésteres decílicos de OSR e OF (B) antes e após o processo de epoxidação <i>in situ</i>	99
Figura 18 - Ilustração dos filmes de PVC preparados pelo método <i>casting</i> a partir dos óleos vegetais epoxidados.....	100
Figura 19 - Ilustração dos filmes de PVC preparados pelo método <i>casting</i> a partir dos ésteres decílicos de OSR (A) e OF (B) antes e após o processo de epoxidação.	10

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Exemplos de bioplastificantes disponíveis comercialmente obtidos de diferentes matérias-primas e principais fornecedores.....	35
Tabela 2 - Lipases solúveis e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reaçõesde esterificação e epoxidação e possíveis aplicações	44
Tabela 3- Propriedades de LTL livre e imobilizada via adsorção física em SiO ₂ de casca de arroz.....	7
Tabela 4 - Caracterização química dos óleos vegetais e ésteres decílicos antes e após o processo de epoxidação <i>in situ</i>	97

LISTA DE ABREVIATURAS

PVC	Poli (cloreto de vinila)
LCR	Lipase de <i>Candida Rugosa</i>
LTL	Lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i>
SiO ₂	Partículas de Sílica
LTL-SiO ₂	Lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> (LTL) imobilizada por adsorção em partículas de sílicas.
LTL-Octil-SiO ₂	Lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> (LTL) imobilizada por adsorção em partículas de sílica proveniente funcionalizadas com trietóxi (octil) silano.
Tg	Temperatura de transição vítrea
FDO	Ftalato de (dioctila)
EUA	Estados Unidos da América
II	Índice de iodo
HCl	Ácido clorídrico
H ₂ SO ₄	Ácido sulfúrico
pH	Potencial de hidrogênio iônico
CLEAs	Agregados enzimáticos interligados
RAM	Resina acrílica macroporosa
CALB	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
PALB	Lipase de <i>Pseudozyma antarctica</i>
LG50	Lipase do tipo G50 de <i>Penicillium camemberti</i>
CLsp	Lipase de <i>Candida</i> sp
PSCI-Amano	Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> imobilizada em cerâmica
PLA	Poli (ácido láctico)
PI	Proteína Imobilizada
RI	Rendimento
AH	Atividade Hidrolítica
AE	Atividade Específica
OSR	Óleo de soja refinado
OF	Óleo de fritura
AGL	Ácidos graxos livres
ATG	Análise de termogravimetria
DSC	Calorimetria exploratória diferencial

NaOH	Hidróxido e sódio
H ₂ O ₂	Peróxido de Hidrogênio
IE _{exp.}	Índice de epóxido experimental
PP	Poli propileno
PEBD	Poli (etileno) de baixa densidade
PEAD	Poli (etileno) de alta densidade
H ₃ PO ₄	Ácido fosfórico
OCTES	Trietóxi (octil) silano
X	Porcentagem de Conversão para o índice de iodo
IA	Índice de acidez
IE _{teor.}	Índice de epóxido teórico
Y	Rendimento em relação à epoxidação
S	Seletividade
THF	Tetrahidrofurano
ORSE	Óleo de soja epoxidado
OFE	Óleo de fritura epoxidado
ED	Ésteres decílicos
EDOSRE	Ésteres decílicos epoxidados proveniente do óleo de soja refinado
EDOFE	Ésteres decílicos epoxidados proveniente do óleo de fritura

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	23
2 OBJETIVOS	27
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	28
3.1 PVC E PLASTIFICANTES	28
3.2 PROBLEMAS RELACIONADOS AOS PLASTIFICANTES CONVENCIONAIS: MIGRAÇÃO	31
3.3 BIOPLASTIFICANTES	33
3.4 LIPASES	39
3.5 IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS.....	41
REFERÊNCIAS	50
4 ARTIGO I- PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES DECÍLICOS POR HIDROESTERIFICAÇÃO DE ÓLEO DE SOJA REFINADO E DE FRITURA	58
4.1 INTRODUÇÃO.....	58
4.2 MATERIAIS E MÉTODOS	60
4.2.1 Materiais.....	60
4.2.2 Metodologia.....	60
4.2.2.1 <i>Hidrólise enzimática do óleo de soja refinado</i>	61
4.2.2.2 <i>Hidrólise enzimática do óleo de fritura</i>	61

4.2.2.3	<i>Extração de ácidos graxos livre</i>	61
4.2.2.4	<i>Preparação das partículas de sílica de casca de arroz</i>	62
4.2.2.5	<i>Imobilização de lipase de thermomyces lanuginosus em partículas de sílica</i>	62
4.2.2.6	<i>Produção de ésteres decílicos via esterificação em sistemas isentos de solvente</i>	63
4.2.2.7	<i>Estabilidade operacional do biocatalisador</i>	64
4.2.2.8	<i>Purificação dos ésteres</i>	64
4.2.2.9	<i>Análise térmica dos ésteres produzidos</i>	64
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	64
4.3.1	Hidrólise enzimática de óleo de soja refinado: efeito dos parâmetros na reação de hidrólise	64
4.3.1.1	<i>Efeito da concentração de lipase de candida rugosa</i>	65
4.3.1.2	<i>Efeito da temperatura da reação</i>	66
4.3.1.3	<i>Efeito da velocidade de agitação</i>	67
4.3.1.4	<i>Produção de ácidos graxos livres usando óleo de fritura</i>	69
4.3.2	Caracterização do biocatalisador heterogêneo preparado (LTL-SiO ₂).....	70
4.3.3	Esterificação enzimática para produção de ésteres decílicos em sistema livre de solventes	72
4.3.4	Teste de estabilidade operacional do biocatalisador	74
4.3.5	Análise térmica dos ésteres decílicos produzidos	75

4.4 CONCLUSÃO.....	78
REFERENCIAS	79
5 ARTIGO II- MODIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS POR DIFERENTES ESTRATÉGIAS E APLICAÇÃO COMO BIOPLASTIFICANTES: PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE POLI (CLORETO DE VINILA).....	82
5.1 INTRODUÇÃO.....	82
5.2 MATERIAIS E MÉTODOS	86
5.2.1 Materiais.....	86
5.2.2 Metodologia experimental.....	87
5.2.2.1 <i>Produção enzimática de ésteres decílicos via hidroesterificação.....</i>	<i>87</i>
5.2.2.2 <i>Epoxidação “in situ” de óleos vegetais e ésteres decílicos</i>	<i>87</i>
5.2.2.3 <i>Métodos analíticos</i>	<i>88</i>
5.2.2.4 <i>Determinação do índice de iodo (II)</i>	<i>88</i>
5.2.2.5 <i>Determinação da porcentagem conversão (X).....</i>	<i>89</i>
5.2.2.6 <i>Determinação do índice de acidez (IA).....</i>	<i>89</i>
5.2.2.7 <i>Determinação da porcentagem teórica de grupos epóxi introduzidos (I_{TEÓR.})</i>	<i>89</i>
5.2.2.8 <i>Determinação da porcentagem experimental de grupos epóxi introduzidos (I_{EXP.}).....</i>	<i>90</i>
5.2.2.9 <i>Determinação do rendimento (Y)</i>	<i>91</i>
5.2.2.10 <i>Determinação da Seletividade (S).....</i>	<i>91</i>

5.2.2.11 <i>Preparação dos filmes de pvc</i>	91
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	92
5.3.1 Seleção de biocatalisador para a produção de ésteres decílicos	92
5.3.2 Epoxidação in situ de óleos vegetais e ésteres decílicos	94
5.3.3 Influência da epoxidação in situ nas propriedades químicas de óleos vegetais e ésteres decílicos	96
5.3.4 Preparação dos filmes de pvc pelo método casting	99
5.4 CONCLUSÃO	102
6 CONCLUSÕES	103
7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	104
REFERÊNCIAS	105

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, o consumo de plastificantes aumentou substancialmente em diferentes processos industriais para a produção de materiais do setor automotivo, têxtil, produtos eletrônicos, embalagens de alimentos e brinquedos (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021). De fato, o mercado global de plastificantes foi de US\$ 14,7 bilhões em 2020 e deve atingir US\$ 22,0 bilhões até 2030, com uma taxa de crescimento anual de 4,1% de 2021 a 2030 (ALLIED MARKET RESEARCH, 2022). Estes compostos orgânicos são comumente adicionados às matrizes poliméricas para melhorar suas funcionalidades como flexibilidade, processabilidade e aumento da resistência à fratura e ao impacto. Isto se deve à influência destes compostos nas diferentes propriedades físicas de polímeros como temperatura de fusão, cristalização, ignição, taxa de degradação, hidrofiliçidade e permeabilidade (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022). De um modo geral, os plastificantes possuem cadeias lineares, ramificadas ou cíclicas com massa molecular variando de 300 a 900 g mol⁻¹ (ALHANISH; GHALIA, 2021). Os plastificantes mais empregados mundialmente são os ésteres ftálicos (ftalatos) como ftalato de di(octila), ftalato de di(2-etil-hexila), ftalato de di(isononila), e ftalato de di(isodecila) que correspondem à aproximadamente dois terços do mercado global (CHANG *et al.*, 2021; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022; TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2022). Esta classe de plastificantes tem sido fornecida por diferentes companhias como ExxonMobil Corporation, Mitsubishi Chemicals, BASF, Dow Chemicals, LG Chem., Evonik Industries, Eastman, Nan Ya Plastics, UPC Technology e Shandong Qilo Plasticizers (TRANSPARENCY MARKET RESEARCH, 2022).

Entretanto, os ésteres ftálicos apresentam alguns problemas como a fácil liberação no meio ambiente durante o seu processo de produção, armazenamento, uso ou descarte. Porque estes materiais não estão covalentemente ligados às matrizes poliméricas como o poli (cloreto de vinila) (PVC), a classe de polímeros industriais que mais emprega plastificantes ftálicos (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022). Esta liberação representa uma grande ameaça ao meio ambiente e à saúde humana porque acarreta distúrbios na reprodução humana e na produção de hormônios endógenos (CHANG *et al.*, 2021). Estes materiais foram proibidos em alguns países na produção de brinquedos, instrumentos cirúrgicos, materiais internos para automóveis, e embalagens de alimentos (BOCQUE *et al.*, 2016; LIU *et al.*, 2017; HOSNEY *et al.*, 2020a,b; HOSNEY; MUSTAFA, 2020).

Com o intuito de superar tais limitações, diferentes companhias e pesquisadores em todo o mundo vêm desenvolvendo plastificantes a partir de biomassa, chamados de bioplastificantes, com propriedades físico-químicas similares ou melhoradas se comparado aos plastificantes oriundos do petróleo – ésteres de ácido ftálico (CUI; CAI, 2018; FENG *et al.*, 2018; ARIAS *et al.*, 2020; HOSNEY; MUSTAFA, 2020; HOSNEY *et al.*, 2020a,b; ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021). De fato, a participação de bioplastificantes no mercado global de plastificantes vem aumentando nos últimos anos. Em 2025, a previsão é que o mercado de bioplastificantes atinja US\$ 2,68 bilhões de dólares, com uma taxa de crescimento anual da ordem de 10,7% neste período (GRAND VIEW RESEARCH, 2017). Alguns fatores como a adoção de processos industriais tecnologicamente mais limpos, preocupações socioeconômicas e ampla disponibilidade de matérias-primas em diferentes países têm impulsionado no aumento da produção de plastificantes de fontes renováveis. Os principais compostos empregados como matéria-prima na produção destes compostos são: (i) ácidos orgânicos (cítrico, succínico, adípico, levulínico, benzoico, dentre outros); (ii) isosorbídeo (1,4-dianidrosorbitol), um diol obtido da desidratação catalítica de sorbitol; (iii) cardanol, um composto fenólico obtido do líquido da casca de castanha de caju; (iv) triacilgliceróis (óleos vegetais, gorduras animais e óleos residuais) e seus derivados (ácidos graxos livres) (ALHANISH; GHALIA, 2021; SINISI *et al.*, 2022). Dentre estas matérias-primas, os triacilgliceróis são os mais empregados na produção de bioplastificantes. De fato, cerca de 85% do mercado global de bioplastificantes utiliza como matéria prima óleo de soja (óleo epoxidado) (GRAND VIEW RESEARCH, 2017).

Normalmente, a produção de bioplastificantes a partir de matérias-primas graxas requer uma série de reações químicas para a inserção de grupos com maior polaridade e reatividade como a epoxidação – conversão de insaturações nas estruturas dos ácidos graxos presentes em triacilgliceróis em grupos epóxi, também chamados oxirano, empregando peróxidos na presença de catalisadores (ZHANG *et al.*, 2017; FENG *et al.*, 2018; LV *et al.*, 2018; WAI *et al.*, 2019). Estas reações químicas ocorrem preferencialmente na presença de catalisadores homogêneos altamente corrosivos como HCl, H₂SO₄, HNO₃ H₃PO₄ e outros ácidos orgânicos que requerem elevadas temperaturas de reação e maior número de etapas posteriores de recuperação e purificação destes compostos (SUSTAITA-RODRIGUEZ *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2017; ARIAS *et al.*, 2020; GUPTA *et al.*, 2020). Além disso, os grupos epóxi introduzidos na estrutura dos ácidos graxos podem sofrer abertura por serem altamente instáveis em meios ácidos (WANG *et al.*, 2018; WAI *et al.*, 2019). Estes processos tradicionais requerem etapas adicionais de purificação, geram efluentes líquidos, causam a oxidação dos equipamentos e apresentam elevado consumo energético (CECILIA *et al.*, 2020). Assim, a

utilização de catalisadores biológicos (lipases) é promissora, pois esses catalisadores operam em condições brandas de temperatura e pressão, proporcionam reações mais seletivas e produtos com elevado grau de pureza (BOLINA *et al.*, 2021; MONTEIRO *et al.*, 2021a,b).

Neste contexto, o objetivo desta Dissertação de Mestrado consistiu na produção de uma série de bioplastificantes a partir de óleo de soja refinado e de fritura empregando como catalisadores enzimáticos, lipases microbianas de diferentes fontes disponíveis comercialmente. Além disso, foi também empregada catálise química clássica – reações de epoxidação de óleos vegetais e seus derivados (ésteres decílicos) empregando peróxido de hidrogênio em meio de ácido fórmico, um ácido orgânico obtido a partir de materiais lignocelulósicos por reações sequenciais de hidrólise ácida e desidratação/hidratação (TIAN *et al.*, 2021). Para a realização deste estudo, foram desenvolvidos diferentes biocatalisadores heterogêneos via adsorção física de lipases em diferentes suportes. Para uma melhor compreensão do estudo realizado, ele foi dividido em Capítulos.

O Capítulo 1 consiste no levantamento bibliográfico sobre a relevância dos plastificantes na indústria química, suas principais características e problemáticas, as vantagens da substituição de plastificantes oriundos do petróleo por compostos de origem renovável (bioplastificantes), uma breve descrição dos tipos de bioplastificantes e os principais fornecedores, principais rotas de produção e a adoção de enzimas como potenciais catalisadores na produção de diferentes bioplastificantes.

O Capítulo 2 sumariza a produção de ésteres decílicos a partir dos óleos de soja e de fritura. O óleo de soja é o segundo mais consumido no mundo – 60,24 milhões de toneladas em 2021/2022 conforme Statista (2022) e seu uso como matéria-prima para a produção de bioplastificantes pode ser altamente promissor em muitos países como Brasil, um dos principais produtores mundiais deste óleo de acordo com Opportimes (2022). O processamento de alimentos gera um grande volume de óleo de soja residual (fritura) que normalmente é descartado no ambiente natural e pode causar impactos negativos na vida humana e nos ecossistemas (CÉSAR *et al.*, 2017; NANDA *et al.*, 2019). Consequentemente, seu uso como matéria-prima na produção de bioplastificantes pode ser economicamente e ambientalmente viáveis, em decorrência do baixo custo e fácil obtenção e o aproveitamento de um subproduto com alta carga poluidora no meio ambiente e produção de um plastificantes ecologicamente correto, respectivamente (LIU *et al.*, 2020; CARVALHO *et al.*, 2021). Os ésteres decílicos foram produzidos via hidrólise enzimática sequencial dos óleos para a produção de ácidos graxos livres. Nesta etapa, extrato enzimático bruto de *Candida rugosa* (LCR) foi usado como biocatalisador por ser uma preparação de lipase não-específica em reações de hidrólise de

triacilgliceróis. A escolha de lipases não específicas é de grande relevância para a completa hidrólise de ligações éster nas estruturas de diferentes triacilgliceróis (CARVALHO *et al.*, 2021; GUEDES JR. *et al.*, 2022). Ésteres decílicos foram produzidos via esterificação dos ácidos graxos livres obtidos na etapa de hidrólise com decanol em meio isento de solventes. Nesta etapa, um biocatalisador heterogêneo foi preparado via adsorção por interações iônicas de lipase de *Thermomyces lanuginosus* – LTL (Lipolase 100L) em partículas de sílica (SiO₂) obtidas do tratamento termoquímico de um resíduo agroindustrial facilmente encontrado no país – casca de arroz. O desempenho catalítico da lipase imobilizada (LTL-SiO₂) foi comparado com a sua forma livre (solúvel). A estratégia adotada neste estudo também não tem sido reportada na literatura ainda.

O Capítulo 3 descreve o processo de epoxidação *in situ* de óleos vegetais e ésteres decílicos obtidos e aplicação destes materiais na produção de filmes flexíveis de poli (cloreto de vinila) (PVC) empregando ácido fórmico. Esta modificação química consiste na conversão parcial das insaturações presentes na estrutura dos ácidos graxos em grupos oxirano (epóxi) que possibilita obter bioplastificantes com excelentes propriedades físico-químicas (LIU *et al.*, 2020; ALHANISH; GHALIA, 2021). O desempenho dos diferentes bioplastificantes produzidos neste estudo foram comparados com filmes de PVC obtidos na ausência e presença de bioplastificante comercial como ftalato de di(octila). Neste estudo, os filmes de PVC foram produzidos pelo método “*casting*” que consiste na preparação de uma solução polimérica em solvente orgânico (tetrahidrofurano) e colocada em suporte de vidro para evaporação do solvente e formação do filme. Esta técnica tem sido a mais empregada para a formação de diferentes filmes de PVC para distintas aplicações (LEE *et al.*, 2018; SUZUKI *et al.*, 2018; PATIL; JENA, 2021). É importante ressaltar que a aplicação de ésteres decílicos obtidos ainda não é descrita na literatura especializada. Isso mostra a originalidade deste trabalho para a produção de novos candidatos como potenciais bioplastificantes para a produção de diferentes polímeros de interesse industrial.

2 OBJETIVOS

O objetivo geral do estudo realizado foi a produção de bioplastificantes a partir de diferentes matérias-primas como óleos vegetais (soja refinado e de fritura) e aplicação na produção de filmes de PVC. Levando em consideração este aspecto, o objetivo global do projeto foi alcançado mediante a execução dos seguintes objetivos específicos:

- a) avaliar as variáveis que influenciam na reação de hidrólise do óleo de soja refinado, e maximiza-las para obter maior rendimento;
- b) avaliar a produção de ésteres via esterificação direta de decanol e ácidos graxos livres em meios isentos de solventes, e avaliação da estabilidade operacional do biocatalisador após sucessivos ciclos de reação em modo batelada;
- c) estudar a epoxidação *in situ* os diferentes óleos vegetais e seus ésteres decílicos empregando ácido fórmico e caracterização dos materiais obtidos por diferentes técnicas;
- d) estudar a produção dos filmes de poli (cloreto de vinila) empregando os óleos vegetais epoxidados e ésteres decílicos produzidos (nas formas não epoxidada e epoxidada), caracterizar os filmes plastificados por diferentes técnicas, e comparar as propriedades dos filmes de PVC preparados com plastificante comercial (ftalato de (dioctila)).

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PVC E PLASTIFICANTES

O poli (cloreto de vinila) (PVC) é um polímero derivado do petróleo com grande demanda mundial. Sua produção é destinada na fabricação de brinquedos infantis, equipamentos hospitalares, embalagens para alimentos, roupas e insumos hospitalares (FENG *et al.*, 2018; LI *et al.*, 2017; NAJAFI; ABDOLLAHI, 2020). Sua composição é de 57% m/m de cloro (proveniente da eletrólise do sal marinho) e 43% de etileno (INSTITUTO DO PVC, 2022). Na síntese, o etileno é submetido à evaporação e juntamente com cloro (também no estado gasoso) produzindo 1,2-dicloroetano, posteriormente o monômero de cloreto de vinila e por fim o poli (cloreto de vinila) (PVC). A produção mundial desse plástico no ano de 2019 foi da ordem de 368 milhões de toneladas, aproximadamente 9 milhões a mais do que no ano anterior (PLASTICSEUROPE, 2022). Embora seja um dos principais polímeros usados mundialmente, este material possui uma elevada temperatura de transição vítrea e baixa resistência mecânica o que ocasiona quebras e rachaduras em sua estrutura (CAI *et al.*, 2020).

Devido à existência de fortes interações entre as cadeias de PVC pelas interações dipolo existentes entre os átomos de carbono e cloro, as cadeia poliméricas possuem baixa mobilidade e são propensas à rachaduras (SARNO; IULIANO; CIRILLO, 2019; LIU *et al.*, 2017). Agentes plastificadores são adicionados neste material para tonar mais flexível (LIU *et al.*, 2020). As interações entre os grupos funcionais dos plastificantes e os átomos de cloro do PVC são realizada por meio de ligações de hidrogênio reduzem as interações original dipolo-induzido da molécula de polímero, promovendo uma mudança no arranjo tridimensional do material e aumento da mobilidade (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Dentre os diferentes aditivos, pode-se destacar os agentes de expansão, agentes de reticulação, antiestáticos, corantes, estabilizantes, lubrificantes, nucleadores, retardantes de chamas e plastificantes (ALMEIDA; SOUZA, 2015).

A utilização de plastificantes se iniciou industrialmente a partir de 1800, com a utilização de óleo de mamona e cânfora em materiais celulósicos. Nos anos 1900, houve a industrialização dos plastificantes e o óleo de cânfora foi substituído por fosfato de trifênica, e posteriormente foram utilizados ésteres a base de ácido ftálico, popularmente conhecidos como ftalatos, que proporcionaram a produção em massa dos polímeros, principalmente do PVC (BOCQUE *et al.*, 2016). Cerca de 90% desses aditivos produzidos no mundo são aplicados no neste polímero (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021).

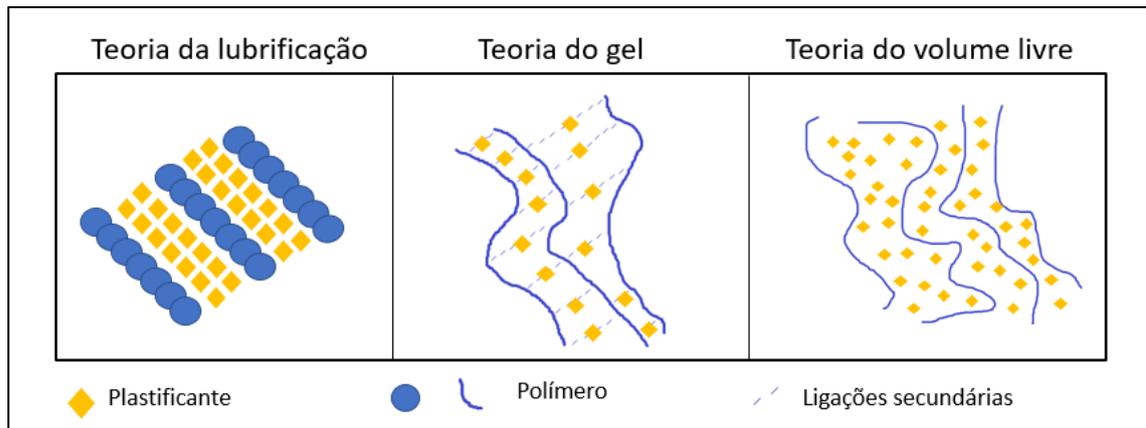
Plastificantes estão entre os aditivos mais empregados na indústria polimérica. Anualmente, são produzidos mais de 6,4 milhões de toneladas desse aditivo em todo o mundo (TAN *et al.*, 2019). São compostos especialmente alifáticos com cadeias ramificadas ou lineares, atuando nos espaços disponíveis da matriz. A implementação desses materiais foi aceita pelo mercado, principalmente no desenvolvimento de ligas poliméricas destinadas para setores até então inéditos como automobilísticos, alimentícios, insumos hospitalares como tubulações, próteses humanas e veterinárias, etc. (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021).

Os plastificantes podem atribuir mudanças na estrutura do material que diminuam as propriedades físicas como dureza, elasticidade e o aumento da flexibilidade (BLÁZQUEZ-BLÁZQUEZ *et al.*, 2019; PYEON *et al.*, 2017). Propriedades químicas como cristalização, gelificação, interação com a água, resistência à chama e permeabilidade de gases também são alteradas durante o processamento (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021.; BOCQUÉ *et al.*, 2016). Os plastificantes são incorporados à matriz polimérica durante a etapa de processamento, com o intuito de reduzir a temperatura de transição vítrea (T_g) do material e melhorar a sua processabilidade (BOCQUÉ *et al.*, 2016; FENG *et al.*, 2018).

A T_g pode ser definida como a temperatura na qual ocorre a transição do estado vítreo para o estado elástico. Essa propriedade influencia na mobilidade das moléculas e caracteriza o material como elásticos ou rígidos (MA *et al.*, 2020). Em especial, os polímeros amorfos sofrem influência pelo tipo de cadeia, interação entre elas e na presença de aditivos. A variação da T_g pela incorporação de plastificantes à matriz polimérica está relacionada com as interações eletrostáticas e impedimento estérico que essas moléculas causam na matriz, alterando principalmente as características físico-químicas (KLÄHN *et al.*, 2019).

Existem três teorias consolidadas sobre a plastificação desenvolvidas após 1930. Elas são chamadas de teoria da lubrificação, teoria de gel e a teoria do volume livre. Todas as teorias partem da premissa de que o plastificante reduz as forças secundárias existentes entre as cadeias poliméricas ocupando os espaços intermoleculares e modificando a estrutura tridimensional do polímero (BOCQUE *et al.*, 2016; CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Na Figura 1 é possível observar as representações sobre cada teoria da plastificação (lubrificação, gel e volume livre), de modo a observar a disposição espacial do plastificante na matriz polimérica, assim como a disposição das cadeias poliméricas de acordo com cada teoria.

Figura 1 - Representações das três teorias da plastificação consolidadas pela literatura



Fonte: Adaptado de BOCQUÉ *et al.*, 2015.

De acordo com a teoria da lubrificação, os plastificantes ao serem incorporados à matriz são difundidos nas cadeias poliméricas e diminuem o atrito intermoleculares. As moléculas do polímero “deslizam” entre si enquanto o plastificante promove a lubrificação (BOCQUE *et al.*, 2016). A teoria do gel relaciona a interação do plastificantes com a rede tridimensional do polímero e as forças secundárias de menor energia. Os plastificantes atuam diminuindo as interações e impedem um maior número de ligações entre as moléculas polímero-polímero, evitando o rearranjo (KLÄHN *et al.*, 2019; BOCQUE *et al.*, 2016).

A teoria do volume livre diz que os polímeros rígidos possuem pequenos espaços entre as cadeias poliméricas e a incorporação de plastificantes à matriz promove o aumento desses interstícios moleculares, permanecendo estável quando o material é resfriado. Essa variação do volume aumenta a flexibilidade e a maleabilidade do material (BOCQUE *et al.*, 2016; KWON, CHANG, 2021). Plastificantes com cadeias moleculares curtas proporcionam melhores preenchimentos do volume livre quando comparados com os de cadeias longas, devido à fácil miscibilidade e permeabilidade que essas cadeias menores possuem (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Além das teorias envolvendo o fenômeno da plastificação, é possível classificar os plastificantes de acordo com o tipo de interação com o polímero.

A classificação mais usual para os plastificantes é referente ao tipo de interação com o polímero, podendo ser externa ou interna. Os plastificantes externos requerem compatibilidade com o polímero e com o solvente e sua solubilização é decorrente das interações secundárias com a matriz, como interações apolares e polares (forças de Van der Waals e ligações de hidrogênio) (KLÄHN *et al.*, 2019; BOCQUE *et al.*, 2016). Esse tipo de plastificação é amplamente propagado pela indústria apesar de ser considerada fraca, podendo ocorrer migração, lixiviação e volatilização do material (BOCQUE *et al.*, 2016). Os plastificantes

internos são inseridos à matriz por ligações covalentes entre as cadeias poliméricas e plastificantes. Esse tipo de ligação faz com que as moléculas de plastificantes interajam intrinsecamente com o polímero, diminuindo sua migração e volatilização (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021).

Os plastificantes também podem ser classificados em primários ou secundários. Os plastificantes primários precisam ser totalmente solúveis no polímero (mesmo em altas concentrações), não voláteis e usados unicamente como agentes plastificantes. Os plastificantes secundários possuem um processo lento de gelatinização, tem limite de compatibilidade com o polímero podendo não serem incorporados em altas concentrações, causando exsudação e liberação para a superfície do material (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021; BOCQUE *et al.*, 2016).

3.2 PROBLEMAS RELACIONADOS AOS PLASTIFICANTES CONVENCIONAIS: MIGRAÇÃO

Cerca de 80% da produção mundial de plastificantes é aplicada em PVC (ERYTHROPEL *et al.*, 2015; LI *et al.*, 2017; GUIDA *et al.*, 2022; MA *et al.*, 2020). As propriedades dos materiais plastificados estão relacionadas com a interação entre os grupos funcionais do polímero e plastificante. Grupos epóxi, éster, aromáticos e hidroxila promovem interações mais favoráveis com as cadeias de PVC (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021; LI *et al.*, 2017; PERREIRA *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2019b).

Os plastificantes mais utilizados no PVC são à base de ftalatos, principalmente o ftalato de dioctila (FDO) que proporciona ao polímero uma resistência às altas temperaturas, às chamas e aumenta sua flexibilidade (NAJAFI; ABDOLLAHI, 2020). A produção desse plastificante no mercado global é superior a 80% de todos os plastificantes produzidos (LI *et al.*, 2017; SOUILLIER; PLAISANCE; DESAUZIERS, 2022; BRIOU *et al.*, 2019). A sua elevada utilização é decorrente a algumas características, como: (i) boa compatibilidade com a matriz, (ii) eficiência na plastificação, (iii) incolor e inodoro e (iv) isolamento elétrica (MA *et al.*, 2020). Contudo, estudos recentes apontam o risco de intoxicação, migração para o ambiente, desenvolvimento de doenças crônicas como asma, rinite e câncer, problemas hormonais e endócrinos, risco de autismo e dificuldade para engravidar (ERYTHROPEL *et al.*, 2015; LIU *et al.*, 2020; BROSTOW; LU; OSMANSON, 2018; CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021; BLANCO-ZUBIAGUIRRE *et al.*, 2021). Órgãos reguladores como Agência de Proteção Ambiental dos EUA e a União Europeia (EPA e *European Union*, respectivamente) proibiram

a utilização de plastificantes provenientes de ftalatos em brinquedos infantis, embalagens de alimentos e insumos hospitalares (LIU *et al.*, 2020; PALACIOS-ARREOLA *et al.*, 2022). Esses compostos estão se tornando ilegais em diversos países nos últimos anos (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). As moléculas presentes na estrutura do FDO são consideradas pequenas, assim a força de coesão entre as partículas do plastificante e da matriz polimérica é baixa, promovendo sua migração (MA *et al.*, 2020).

A avaliação da retenção dos plastificantes na matriz polimérica é feita analisando o tamanho das cadeias moleculares, grupo carboxílico, polaridade e composição química. Grande parte desses aditivos não interagem quimicamente com o polímero podendo ocorrer liberação para o ambiente durante seu uso ou processamento. Determinar suas concentrações no material em contato com o filme polimérico plastificado é de fundamental importância para minimizar contaminações aos seres humanos e meio ambiente (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Compostos provenientes de ftalatos possuem afinidades com moléculas lipídicas e tendência de acúmulo em tecidos adiposos e sistema endócrino (BERNARD *et al.*, 2015; BRUGOS-ACEVES; ABO-AL-ELA; FAGGIO, 2021; CHANG *et al.*, 2021; HALA *et al.*, 2021). Concentrações consideráveis desses compostos foram encontrados em amostras de alimentos, leite materno, águas engarrafadas e cosméticos. Além do risco à saúde humana, esses aditivos podem modificar as propriedades sensoriais do alimento, diminuindo o seu consumo (AZNAR *et al.*, 2020).

A migração dos compostos presentes nos plastificantes podem ser avaliadas por quatro modos: volatilidade, extração e lixiviação, migração nos sólidos e exsudação sob pressão. Geralmente, se utiliza o termo de “estabilidade de migração” para avaliar os parâmetros descritos acima (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Os testes são realizados com uma massa inicial de polímero plastificado e a massa final após a submissão aos testes, na qual temperatura e pressão são variáveis intrínsecas do processo (AZNAR *et al.*, 2020; BLANCO-ZUBIAGUIRRE *et al.*, 2021).

Em insumos médicos, o PVC plastificado é empregado em mangueiras flexíveis, cateteres, máscaras de inalação, entre outros insumos. Bolsas de sangue produzidas com FDO podem contaminar o sangue e, conseqüentemente, intoxicar os indivíduos que recebem as transfusões (CHANG *et al.*, 2021; MA *et al.*, 2020). Uma técnica utilizada para avaliar a miscibilidade do plastificantes na matriz polimérica é a análise de espectroscopia na região do infravermelho (espectroscopia IV). A diminuição dos sinais das bandas é atribuída à diminuição das interações existentes entre as moléculas de polímeros e interação entre cadeias polímero-plastificante (CZOGAŁA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). No setor alimentício, o contato

do alimento e a embalagem acarreta na migração de compostos tóxicos e incorporação pelo alimento e posteriormente sua ingestão. Em especial, pigmentos, adesivos, plastificantes e óleos minerais são exemplos dessas substâncias nocivas à saúde humana (BLANCO-ZUBIAGUIRRE *et al.*, 2021b; CHANG *et al.*, 2021; HARMON; OTTER, 2022). Neste contexto, pesquisadores do mundo todo buscam materiais alternativos que substituam os ftalatos, apresentando as mesmas propriedades, mas inertes. Óleo de soja epoxidado está entre os promissores materiais para tal finalidade (BOCQUE *et al.*, 2016; JI *et al.*, 2022; CUI *et al.*, 2016; ZHANG *et al.*, 2017; HE *et al.*, 2020; PEREIRA *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2019; CAI *et al.*, 2020; FENG *et al.*, 2019; HASSAN *et al.*, 2019; SUZUKI *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2020).

3.3 BIOPLASTIFICANTES

A alta demanda por combustíveis e a degradação das jazidas de petróleo tem levado à busca de tecnologias alternativas (AREA *et al.*, 2019). Estima-se que os combustíveis e derivados de petróleo ficarão cada vez mais escassos e os preços mais elevados nas próximas décadas (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021). A aplicação de recursos renováveis como rotas alternativas ao petróleo já está sendo usada para a produção de combustível, necessitando de algumas modificações químicas para suas aplicações (FENG *et al.*, 2018; BORUGADDA; GOUD, 2016; HARTER; SANTOS; FABRIS, 2018; MANSIR *et al.*, 2018; ARIFFIN; IDRIS, 2022; RAMOS *et al.*, 2022; BRÊDA *et al.*, 2022).

Os bioplastificantes são substâncias que promovem a substituição dos compostos oriundos de fontes fósseis como os ftalatos que são considerados tóxicos para o ambiente e carcinogênicos para o ser humano (PYEON; PARK; SUH, 2017). Dentre as características requeridas para um bom bioplastificante, estão o baixo custo, origens naturais e renováveis, biodegradabilidade e propriedades similares aos materiais convencionais (AREA *et al.*, 2019, HASSAN *et al.*, 2019; HE *et al.*, 2020; MORGAN; MUKHOPADHYAY, 2022; FENG *et al.*, 2022). Contudo, a baixa interação entre as moléculas desses materiais com o PVC limita seu desenvolvimento (LIU *et al.*, 2017). Alguns agentes plastificantes como reportado por Greco; Ferrari; Maffezzoli (2016), podem funcionar apenas como auxiliares do processo de plastificação. Bioplastificantes que possuem grupamentos polares possuem melhores interações com a matriz polimérica devido à interação de hidrogênio existente entre as cadeias do aditivo e o PVC (LIU *et al.*, 2020). Grande parte dos bioplastificantes atuam como plastificantes externos. Em um estudo realizado por Pyeon; Park; Suh (2017), o bioplastificante (1-7-7-trimetildispiro [dioxalato-2,2-biciclo, [2.2.1] 3,2-hepteno dioxalato]-4,4-diil) di (metilato)

dioctanoato (CDO) apresentou menores taxas de migração quando comparado com o plastificante comercial. Estudos sugerem que matérias-primas de fontes renováveis como triacilgliceróis (óleos vegetais, microbianos e gorduras animais) e seus derivados (ácidos graxos livres) são atrativas para o desenvolvimento de agentes plastificantes, pois proporcionam uma plastificação eficiente e minimiza os impactos ambientais e as contaminações que derivados de ftalatos trazem para o meio ambiente (CUI; CAI, 2018; FENG *et al.*, 2018; LV *et al.*, 2018; SUSTAITA-RODRIGUEZ *et al.*, 2018; HOSNEY; MUSTAFA, 2020; HOSNEY *et al.*, 2020a,b). Esses materiais são aplicados em tintas, revestimentos, biodiesel e lubrificantes, sendo algumas dessas aplicações por meio de processos de esterificação das cadeias carbônicas (HASSAN *et al.*, 2019).

Atualmente, diferentes empresas em todo o mundo vêm produzindo e comercializando bioplastificantes de diferentes fontes vegetais, principalmente óleos vegetais como soja, mamona, coco, girassol e linhaça, dentre outras, para a produção de diferentes polímeros de interesse industrial, principalmente PVC. Na Tabela 1, estão sumarizados alguns exemplos de bioplastificantes disponíveis comercialmente obtidos de diferentes matérias-primas e os seus respectivos fornecedores. Estas empresas estão situadas em países que se destacam pela elevada produção agrícola como EUA, Brasil, China e Argentina. No Brasil, algumas empresas como Nexoleum, Petrum e Resypar disponibilizam comercialmente bioplastificantes obtidos da epoxidação de diferentes óleos vegetais como soja para diferentes aplicações (Tabela 1).

As ótimas propriedades térmicas desses materiais viabilizam a aplicação em polímeros, principalmente em termoplásticos (CUI; CAI, 2018). Diferentes dos óleos minerais, os óleos vegetais possuem algumas limitações quando aplicados como plastificantes ou lubrificantes. Algumas propriedades atribuídas aos óleos são decorrentes do nível de insaturação de suas cadeias carbônicas. Essa característica pode ser determinada por meio do índice de iodo (II). Os óleos vegetais são classificados em três grupos, os óleos secos ($II > 130$), semi-secos (II entre 100 e 130) e não secos ($II < 100$). Óleos com altos níveis de insaturação possuem uma baixa viscosidade, desta forma, a miscibilidade entre as cadeias poliméricas é favorecida. Assim, óleos vegetais com insaturações vêm sendo estudados como plastificantes (HASSAN *et al.*, 2019).

Tabela 1 - Exemplos de bioplastificantes disponíveis comercialmente obtidos de diferentes matérias-primas e principais fornecedores.

(Continua)

Matéria-prima	Fornecedor	Nome comercial	Estrutura química	Endereço eletrônico
Óleo de mamona	Danisco (EUA)	GRINDSTED® SOFT-N-SAFE®	Monoglicerídeo acetilado derivado do óleo hidrogenado	Bio-based Plasticisers (dupontnutritionandbiosciences.com)
Óleos vegetais (soja e girassol)	Varteco (Argentina)	Kalflex® 13A, Kalflex® 13 e Kalflex® 13 SOL	Óleos epoxidados	Products - Varteco Química Puntana S.A.
Ácido cítrico	Vertellus (EUA)	Citroflex™ B-6	Ésteres de ácido cítrico	Citroflex™ B-6 Plasticizer - Vertellus
Óleos de soja	Nexoleum (Brasil)	Nexo E1	Linoleato de metila epoxidado	Nexoleum - bioderivados
Óleo de coco	Oleon (Bélgica)	Radia 7909	Não reportado	Radia 7909 - Bioplasticizer Agrobiobase, the showcase of biobased products
Óleo de soja	Avient (EUA)	reFlex™ 100	Óleo epoxidado	PO_reFlex100_4pg_PB_121001_FINAL_10-1-12.pdf (avient.com)
Ácido sebácico	Henan GO Biotech (China)	Não informado	Sebacato de dioctila	Dioctyl Sebacate Factory Supply DOP Plasticizer Products (mindfulbewust.be)
Ácido cítrico			Citrato de tri- <i>n</i> -butila	Tri -n -butyl Citrate (TBC) Factory Supply DOP Plasticizer Products (mindfulbewust.be)
Líquido da castanha de caju	Cardolite (EUA)	NX-2026	Cardanol (composto fenólico com cadeia alifática)	Cashew Nutshell Liquid (CNSL) Technology Cardolite

Fonte: Do autor.

Tabela 1 - Exemplos de bioplasticantes disponíveis comercialmente obtidos de diferentes matérias-primas e principais fornecedores.

(Conclusão)

Matéria-prima	Fornecedor	Nome comercial	Estrutura química	Endereço eletrônico
Óleo de soja	ACS Technical Products (EUA)	EPOXOL® 7-4	Óleo de soja epoxidado	EPOXOL® 7-4 Epoxidized Soybean Oil ACS Technical Products
Óleos vegetais	Cargill (EUA)	Biovero™ Vikoflex®, Vikolox®, Vikinol®, e Vikopol®	Óleos epoxidados	Cargill Biovero™ Phthalate-Free Plasticizers Cargill Epoxidized Vegetable Oils Cargill
Óleos vegetais (soja e linhaça)	Valtris (EUA)	Lankroflex™ & Plas-Chek®, Lankroflex™ e Lankroflex™ ED6	Óleos epoxidados	Epoxies - Reactive Prepolymers Valtris Specialty Chemicals
Óleos vegetais	Petrom (Brasil)	PLS Green 5	Óleos epoxidados	PLS Green – O plastificante de fontes renováveis da Petrom – PLS Green: a linha de plastificantes monoméricos primários de origem vegetal que reúne diversas vantagens
Óleos vegetais	Resypar (Brasil)	Resyflex® K-X, Resyflex® K-10, Celuflex® AT 100, e Celuplast® LM	Óleos epoxidados	Resypar Indústria e Comércio Ltda

Fonte: Do autor.

Os óleos vegetais possuem baixa estabilidade oxidativa e térmica, estabilidade hidrolítica, alta temperatura de sensibilidade e poucas propriedades de escoamento. Contudo, modificações físico químicas melhoram tais limitações e proporcionam produtos com elevada pureza e valor agregado (BORUGADDA; GOUD, 2016; BOCQUÉ *et al.*, 2016; HASSAN *et al.*, 2019; SABI *et al.*, 2022; GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022). Freng *et al.* (2018), relataram a síntese de plastificante proveniente de óleo de soja residual transesterificado e epoxidado com metanol e cloreto de tetrabutylamônio, respectivamente, para a produção de filmes de PVC. O material produzido apresentou boa miscibilidade com a resina de PVC e baixas taxas de migração por solventes orgânicos e água.

Óleos vegetais e derivados lipídicos como ácidos graxos vêm sendo utilizados nesta área, melhorando a dureza do material em até 200% com o carregamento de plastificante de 5% m m⁻¹ (LIU *et al.*, 2020). Óleo de girassol foi empregado como plastificante na produção de borracha de butadieno e polibutadieno. Óleo de coco foi aplicado em borrachas naturais e proporcionou melhores valores de diminuição de tensões e resistência do polímero do que naftaleno, olefinas de origem fóssil usado comercialmente para tal propósito (HASSAN *et al.*, 2019; JIA *et al.*, 2019). Algumas propriedades dos óleos vegetais influenciam diretamente na aplicabilidade, sendo eficiência do processamento, resistência mecânica, resistência química, estabilidade térmica as principais para a produção de bons plastificantes (HASSAN *et al.*, 2019).

O ácido oleico, um dos principais ácidos graxos presentes na composição do óleo de soja, oliva e abacate, foi estudado como agente de plastificação e comparado com o plastificante comercial – ftalato de dioctila (FDO) (OMRANI *et al.*, 2016). Entretanto, os plastificantes oriundo de triacilgliceróis apresentam baixas compatibilidades com a matriz. Uma alternativa atrativa é a utilização dos ácidos graxos livres e seus derivados (ésteres e/ou epóxidos) (LI *et al.*, 2017; HASSAN *et al.*, 2020; CZOGALA; PANKALLA; TURCZYN, 2021). Ésteres epoxidados apresentam maiores estabilidades à volatilidade se comparados com o plastificante convencional (FDO). Esse resultado promissor se deve à presença de cadeias moleculares maiores e com anel epóxi que aumenta a interação com o PVC.

A produção mundial de óleo de soja na safra de 2020/2021 foi em torno de 210 milhões de toneladas métricas (GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022). Parte dessa produção é encaminhada ao processamento de alimentos e transformada em subproduto (óleo processado) que é encaminhado ao descarte em aterros sanitários ou despejado de forma indevida em efluentes,

ocasionando sérios problemas econômicos e ambientais (GAO *et al.*, 2022; FANGFANG; ALAGUMALAI; MAHIAN, 2021; CAI *et al.*, 2020).

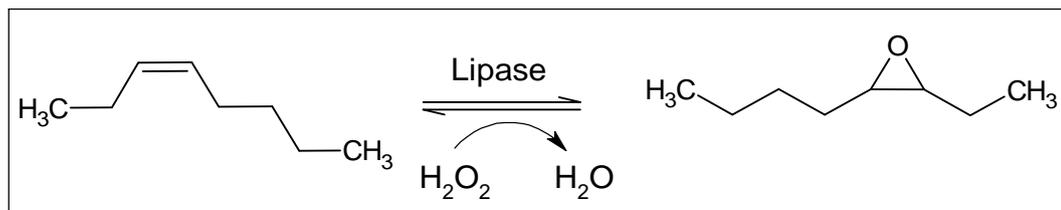
Especificamente, o uso de óleos residuais como óleo de fritura é uma estratégia promissora para o desenvolvimento de compostos de interesse industrial, incluindo plastificantes, devido ao seu: (i) baixo custo, (ii) fácil obtenção, (iii) falta de aplicações concorrentes, (iv) não competem com a indústria de alimentos e, (v) minimiza alguns problemas ambientais pelo seu descarte em rios e lagos (FENG *et al.*, 2018; CAI *et al.*, 2020; LIU *et al.*, 2020; SUZUKI *et al.*, 2018). A utilização de óleos processados para a produção de ésteres ou epóxidos diminui de 70 a 80% do valor final dos custos de produção (SARNO; IULIANO; CIRILLO, 2019).

Esses óleos vegetais possuem cadeias de ácidos graxos com inúmeras insaturações que podem ser convertidas em grupamento epóxidos (BAJAW *et al.*, 2016). Essa reação tem recebido destaque pela indústria pelo fato de a epoxidação de óleos vegetais ser ambientalmente amigável, atóxica, e produzir compostos sustentáveis (ZHANG *et al.*, 2019^a; TAN *et al.*, 2021; CORRÊA *et al.*, 2012).

A síntese de bioplastificante por óleo vegetais, em particular pelo óleo residual, envolve algumas etapas de preparação. Primeiramente, é realizada a hidrólise dos triacilgliceróis para a obtenção de concentrados de ácidos graxos livres. Em seguida, estes ácidos graxos podem ser esterificados e posteriormente epoxidados na presença de peróxido de hidrogênio, juntamente com catalisadores, para formação do anel epóxi. Por fim, é realizada a polimerização do material em presença de ácidos orgânicos como fórmico, acético, dentre outros (ZHANG *et al.*, 2019b; HOSNEY *et al.*, 2019; MARCENEIRO *et al.*, 2022; CZOGALA; PANKALLA; TURCZYN, 2021; FENG *et al.*, 2022). A viabilidade da utilização de poliésteres a partir de óleos vegetais está na sua elevada viscosidade e elevada estabilidade termo-oxidativa (NG *et al.*, 2022). Essa reação pode ser conduzida com o emprego de diferentes catalisadores, dentre eles os ácidos inorgânicos (ácido *p*-toluenossulfônico, HCl, H₂SO₄), ligas metálicas, perácidos, resinas acrílicas e enzimas (JI *et al.*, 2021; LIANG *et al.*, 2022; BAI *et al.*, 2020; PRASANNAKUMAR *et al.*, 2022; WANG; ZHAO; LIU, 2018; PATIL; JENA, 2021). Contudo, a utilização de catalisadores ácidos gera alguns pontos negativos na epoxidação como a abertura do anel (presença de ácidos fortes como ácidos sulfúrico e ácido fosfórico), além das complicações com desgaste de equipamentos e geração de grandes volumes de efluentes gerados nos processos de separação e purificação dos bioplastificantes produzidos (BAJWA *et al.*, 2016; HAITZ *et al.*, 2018).

Na reação de epoxidação, ilustrada na Figura 2, ocorre a funcionalização das duplas ligações para melhorar a estabilidade oxidativa, plastificação e o comportamento em baixas temperaturas dos bioplasticantes (REEVES; SIDDAIAH; MENEZES, 2017). Os métodos variam de acordo com a natureza dos reagentes e os catalisadores que são empregados. No método *in situ* ocorre principalmente em duas etapas: primeiro ocorre a formação do peróxi-ácido, e então ocorre a reação do peróxi-ácido com a ligação dupla não saturada. A instauração então é convertida em um anel epóxido, dependendo de diversas variáveis, como a proporção da instauração no ácido carboxílico, catalisador, concentração do catalisador, temperatura, agitação e tempo de adição do peróxido de hidrogênio (PANCHAL *et al.*, 2017). Assim como o processo de esterificação, as reações de epoxidação podem ser catalisadas empregando resinas, metais ou enzimas (lipases) (ZAINAL *et al.*, 2018).

Figura 2 - Representação de uma reação de epoxidação catalisada por lipase



Fonte: Do autor.

Catalisadores químicos como ácido fórmico, ácido clorídrico, ácido acético e ácido sulfúrico necessitam de elevadas temperaturas do meio reacional e etapas de tratamento devido à geração de grandes volumes de resíduos líquidos (BOLINA; GAMA; MENDES, 2021). Uma alternativa é aplicação de catalisadores de origem biológica que podem ser aplicados nas mesmas reações que os tradicionais suas limitações. Enzimas como lipases são um ótimo exemplo desses catalisadores (JIA *et al.*, 2019; SUSTAITA-RODRIGUEZ *et al.*, 2017; ZHANG *et al.*, 2019a; ARIAS *et al.*, 2020; GUPTA *et al.*, 2020).

3.4 LIPASES

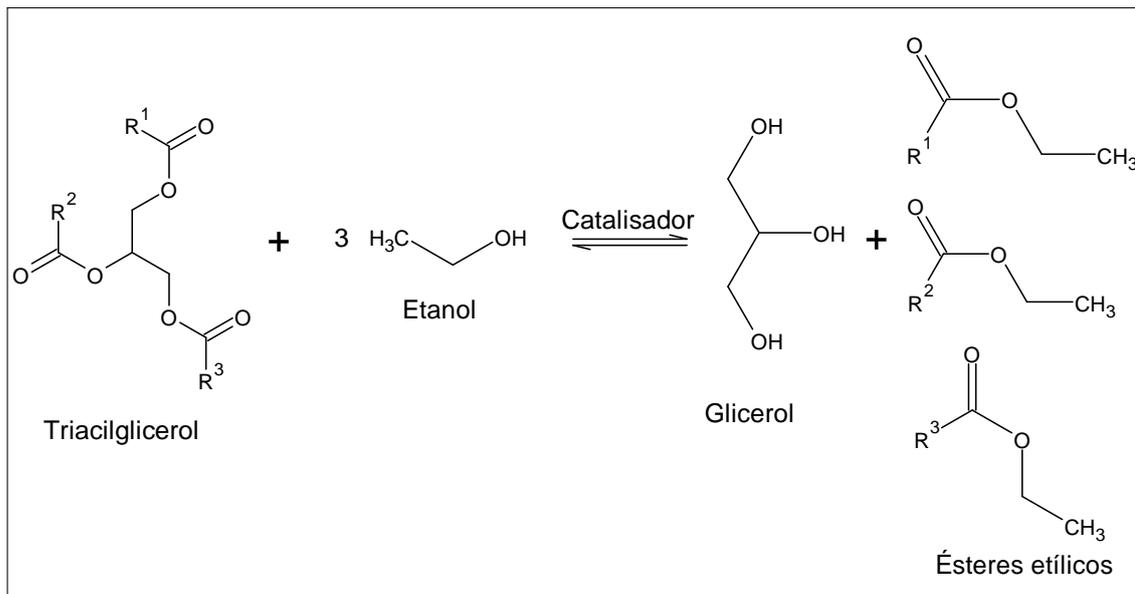
As lipases (triacilglicerol acil hidrolases, E.C.3.1.1.3) são biocatalisadores obtidos a partir de células vegetais, animais e microbianas (HARVER *et al.*, 2012). Elas são amplamente aplicadas no segmento industrial (REIS *et al.*, 2022; VILAS BOAS *et al.*, 2021; CARVALHO

et al., 2021; RAMOS *et al.*, 2022). *In vivo* elas hidrolisam as reações ésteres-carboxílicos, hidrolisando triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol, na interface orgânica- aquosa (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021). *In vitro* elas podem catalisar reações de esterificação, transesterificação, interesterificação e atuam na resolução de misturas racêmicas (FERNÁNDEZ-LAFUENTE, 2010; ADLERCREUTZ, 2013; ALVES *et al.*, 2017; RODRIGUES *et al.*, 2019; TUDO BOM *et al.*, 2021).

A atuação das lipases na interface água:óleo é explicada pelo mecanismo de ativação interfacial. Algumas lipases possuem uma região dotada de cadeias laterais de aminoácidos hidrofóbicos (triptofano, fenilalanina e tirosina) denominada tampa que mantém encoberto o sítio ativo da enzima (HARVER *et al.*, 2012; CASTRO *et al.*, 2004; LAI *et al.*, 2018; GAMA *et al.*, 2019). Na interface água:óleo essa tampa se move, alterando a sua conformidade superficial de fechada para aberta, expondo o sítio ativo para o substrato. Isto permite uma interação da parte hidrofóbica da enzima com a interface apolar do meio, e então a reação é catalisada (ADLERCREUTZ, 2013; RODRIGUES *et al.*, 2019).

Transesterificação, como apresentado na Figura 3, é uma reação na qual um éster é modificado em outro éster por meio da troca do grupo alquil. A transesterificação de óleos vegetais auxilia na síntese de uma variedade de ésteres de alquila de ácidos graxos. A utilização de álcool com diferentes tamanhos de cadeias possibilita a produção de diferentes ésteres, incluindo biodiesel e biolubrificantes (PANCHAL *et al.*, 2017). A estequiometria da reação necessita um mol de triglicérido e três mols de álcool, e o excesso é utilizado para otimizar a quantidade de alquil éster produzido e auxiliar na separação do produto final do glicerol. A reação pode ser catalisada por ácidos, bases ou enzimas e os ésteres produzidos provenientes dos óleos naturais podem ser aplicados no mercado de lubrificantes (PANCHAL *et al.*, 2017).

Figura 3 - Representação da reação química do processo de transesterificação



Fonte: do autor.

A reação de hidroesterificação é um processo que envolve uma etapa de hidrólise e posteriormente uma etapa de esterificação. A hidrólise consiste de uma reação entre a gordura ou óleo com água, produzindo glicerol e ácidos graxos, incluindo, mono e diacilgliceróis. Após a hidrólise, o glicerol é removido por meio de lavagens com água e os ácidos graxos obtidos são então esterificados utilizando um álcool, neutralizando a acidez presente no éster, obtendo um produto com alto grau de pureza (MACHADO *et al.*, 2016; AGUIEIRAS *et al.*, 2014).

3.5 IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS

O uso de enzimas na forma livre pode acarretar algumas desvantagens, como potencial desnaturação mecânica, baixa estabilidade e inativação em meio orgânico, inativação pela variação de pH e temperatura, tornando o uso desse material inviável economicamente (BOLINA; GOMES; MENDES, 2021; SZELWICKA *et al.*, 2019). Com o intuito de superar tais limitações, lipases têm sido imobilizadas por diferentes protocolos (BECARO *et al.*, 2020; CAVALCANTI *et al.*, 2022; CARBALLARES; ROCHA-MARTIN; FERNANDEZ-LAFUENTE, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2019). Esses protocolos de imobilização melhoram a estabilidade enzimática na presença de agentes desnaturantes e proteólise, estabilidade a temperaturas elevadas, pH e solventes orgânicos, facilitam a recuperação do biocatalisador para posterior reuso, minimiza a agregação proteica e possibilidade de aplicação em diferentes tipos

de reatores (OKURA *et al.*, 2020; MACHADO *et al.*, 2019). Diferentes protocolos de imobilização têm sido descritos na literatura, adsorção física, ligação covalente em suportes ativadas, encapsulamento, agregados enzimáticos interligados (CLEAs). Em específico, para a imobilização de lipases o protocolo mais usado é a adsorção física (hidrofóbica e iônica) em diferentes suportes (MACHADO *et al.*, 2019; GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2022).

Na adsorção física hidrofóbica a enzima pode ser adsorvida na superfície do material com a região da tampa na conformação aberta, promovendo a interação do sítio ativo com o substrato. Esse fenômeno é conhecido como mecanismo de ativação interfacial, e além de promover a imobilização da lipase também proporciona a estabilização, impedindo a formação de dímeros proteicos formados pela interação das lipases na sua forma solúvel (CHAPUS *et al.*, 1976; VERGER; DE HAAS, 1978). A ativação interfacial em suportes hidrofóbicos tem sido amplamente reportada pela literatura pois permite uma maior eficiência do catalisador, melhor atividade catalítica e estabilidade operacional (GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022; RODRIGUES *et al.*, 2019; VERCOVI *et al.*, 2017b).

A imobilização de enzima em suportes iônicos é um processo multipontual. Esse método consiste na interação entre os grupos iônicos presentes na lipase e na superfície do suporte. Esses grupamentos iônicos podem estar presentes em sua forma natural ou inseridos na superfície do material por meio de modificações químicas (SABI *et al.*, 2022.; MACHADO *et al.*, 2019). Essas adsorções podem ser reversíveis ou irreversíveis, dependendo da metodologia utilizada (BOLINA; GOMES; MEDES, 2019). A adsorção da enzima em suportes com superfícies iônicas é favorecida quando a interação entre as cargas da enzima e suporte é maior do que a interação da enzima com a carga do meio. Assim, para minimizar a competição entre o meio e a superfície do suporte a imobilização é realizada em baixa força iônica (MACHADO *et al.*, 2019).

Pesquisadores do mundo todo têm concentrado seus esforços para o desenvolvimento de abordagens ecologicamente mais corretas como a preparação e caracterização de novos catalisadores, preferencialmente heterogêneos, e processos isentos de solventes orgânicos (HOSNEY *et al.*, 2020a). A utilização de lipases imobilizadas para catalisar reações de esterificação e epoxidação em meios livre de solventes orgânicos tem sido amplamente reportada em estudos recentes (CUI; CAI, 2018; LV *et al.*, 2018; SUSTAITA-RODRIGUEZ *et al.*, 2018; LEE *et al.*, 2019; SZELWICKA *et al.*, 2019; HOSNEY *et al.*, 2020a; ARIAS *et al.*, 2020). A adoção de processos industriais empregando biocatalisadores heterogêneos (lipases

imobilizadas) torna-se vantajosa, pois reduz o consumo de energia (condições moderadas de reação) e aumenta o grau de pureza dos produtos obtidos (HOSNEY *et al.*, 2020a,b).

De acordo com a Tabela 2, é possível observar a utilização de enzimas imobilizadas ou na forma livre (solúvel) para a síntese de ésteres ou epóxidos de interesse industrial (lubrificantes e plastificantes). A aplicação de lipase na forma de catalisador heterogêneo é mais consolidada que na forma livre em decorrência das considerações citadas anteriormente.

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(continua)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação de óleos vegetais.	(BAJWA <i>et al.</i> , 2016).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação de óleo de semente de <i>Lallemantia Iberica</i> .	(HAITZ <i>et al.</i> , 2018).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> .	Lignocelulósico	Adsorção	Esterificação de ácido oleico (produção de oleato de metila).	(CUI; CAI, 2018).
Lipase de <i>Penicillium camemberti</i> tipo G50.	Resina epóxi (ECR 8285)	Adsorção física hidrofóbica	Epoxidação de óleo oriundos de pupas de bicho-da-seda (plastificante para PVC).	(JI <i>et al.</i> , 2021).

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(continua)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase de <i>Candida</i> sp.	Filme têxtil	Adsorção	Estabilizantes de plastificantes, lubrificantes e intermediários de surfactantes.	(LV <i>et al.</i> , 2018).
Lipase <i>Aspergillus oryzae</i> .	Solvente eutético	-	Epoxidação de óleo de soja.	(ZHANG <i>et al.</i> , 2019b).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Biopolímeros hidrofílico/hidrofóbicos e oligoésteres.	(MUTHUSAMY <i>et al.</i> , 2018).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Plastificantes para PLA.	(SUSTAITA-RODRÍGUEZ <i>et al.</i> , 2021).

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(continua)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Estearato de alquila (ácido oleico) epoxidado.	(ORELLANA-COCA <i>et al.</i> , 2007).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> .	Microemulsão de organogéis	Encapsulamento	Epoxidação de ácido oleico e linoleico.	(ZANETTE <i>et al.</i> , 2014).
Lipase de <i>Rhizomucor miehe</i> .	Livre	-	Epoxidação de alcenos e ciclo-hexeno.	(MÉNDEZ-SÁNCHEZ <i>et al.</i> , 2014).
Lipase de <i>Burkholderia cepacia</i> .	Cerâmica	Adsorção	Epoxidação de ácido oleico.	(CORRÊA <i>et al.</i> , 2012).
Lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> .	Terra de diatomácea	Adsorção	Plastificantes para PVC.	(CUI <i>et al.</i> , 2016).

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(continua)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase B de <i>Candida antarctica</i>	Nanotubos de carbonos de múltiplas paredes	Adsorção	Esterificação do ácido dicarboxílico.	(SZELWICKA <i>et al.</i> , 2019).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Plastificantes para filmes poliméricos.	(MUKHERJEE; GHOSH, 2017).
Lipase Eversa [®] transform 2.0.	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Esterificação do ácido hexanodióico e álcool isononílico.	(LEE <i>et al.</i> , 2019)
Lipase <i>Yarrowia lipolytica</i> .	Terra de diatomácea	Adsorção	Plastificantes para PVC.	(CUI <i>et al.</i> , 2016).

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(continua)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Plastificantes para PVC e outros polímeros.	(KIM <i>et al.</i> , 2019).
Lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i> .	Aerogel macroporoso de carbono	Adsorção	Ésteres com propriedades emolientes, emulsificantes, surfactantes não iônicos, plastificantes, etc.	(KOVALENKO PERMINOVA; BEKLEMISHEV, 2021).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Plastificantes para PVC.	(HOSNEY <i>et al.</i> , 2019).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação do (R)-(+)-limoneno.	(MELCHIORS <i>et al.</i> , 2019).

Tabela 2 - Lipases livres e imobilizadas em suporte heterogêneo aplicadas em reações de esterificação e epoxidação e possíveis aplicações

(conclusão)

Lipase	Suporte	Protocolo de Imobilização	Aplicação	Referência
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação de óleo de soja pela técnica de ultrassom.	(BHALERAO <i>et al.</i> , 2018).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação de óleo de pinhão.	(RIOS, L. A.; ECHEVERRI, D. A.; FRANCO, A., 2011).
Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym 435).	Lewatit VP OC 1600	Adsorção	Epoxidação de ácido oleico assistida por ultrassom.	(AGUILERA <i>et al.</i> , 2022).
Lipase de <i>Candida</i> sp.	Terra de diatomácea	Adsorção	Epoxidação de ácido graxo do óleo da semente de <i>Sapindus mukurossi</i> .	(ZHANG <i>et al.</i> , 2017).

Fonte: Do autor.

REFERÊNCIAS

- ADLERCREUTZ, Patrick. Immobilisation and application of lipases inorganic media. **Chemical Society Reviews**, v. 42, p. 6406–6436, Feb. 2013.
- AGUIEIRAS, Erika C. G. *et al.* Biodiesel production from *Acrocomia aculeata* acid oil by (enzyme/enzyme) hydroesterification process: Use of vegetable lipase and fermented solid as low-cost biocatalysts. **Fuel**, v. 135, p. 315-321, Nov. 2014.
- ALHANISH, A.; GHALIA A. M. Developments of biobased plasticizers for compostable polymers in the green packaging applications. **Biotechnology Progress**, v. 37, n. 6, p. e3210, Nov./Dec. 2021.
- ALLIED MARKET RESEARCH. Plasticizers Market Growth, Trends | Industry Analysis 2030. Oregon, 2022. Disponível em: <https://www.alliedmarketresearch.com/plasticizers-market>. Acesso em: 7 maio 2022.
- ALMEIDA, Gustavo Spina Gaudêncio de; SOUZA, Wander Burielo de. **Engenharia dos Polímeros: tipos de aditivos, propriedades e aplicações**. São Paulo: Erica, 2015.
- ALVES, Michelle D.; ARACRI, Fernanda M.; CREN, Érika C.; MENDES, Adriano A. Isotherm, kinetic, mechanism and thermodynamic studies of adsorption of a microbial lipase on a mesoporous and hydrophobic resin. **Chemical Engineering Journal**, v. 311, p. 1-12, Mar. 2017.
- AOUF, Chahinez *et al.* The use of lipases as biocatalysts for the epoxidation of fatty acids and phenolic compounds. **Green Chemistry**, v. 16, p. 1740-1754, Dec. 2013.
- AREA, Miguel R. *et al.* Corn starch plasticized with isosorbide and filled with microcrystalline cellulose: Processing and characterization. **Carbohydrate Polymers**, v. 206, p. 726–733, Apr. 2019.
- ARIAS, Karen S. *et al.* Chemoenzymatic synthesis of 5-hydroxymethylfurfural (HMF)-derived plasticizers by coupling HMF reduction with enzymatic esterification. **Chemistry Sustainability Energy Materials**, v.13, p. 1864–1875, Jan. 2020.
- BAJWA, Arjun S. *et al.* Chemoenzymatic epoxidation of Karanja oil: an alternative to chemical epoxidation? **Asia-pacific Journal of Chemical Engineering**, v. 11, p. 314–322, Mar. 2016.
- BERNARD, L. *et al.* Migration of plasticizers from PVC medical devices: Development of an infusion model. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 494, n. 1, p. 136–145, Oct. 2015.
- BHALERAO, Machhindra S.; KULKARNI, Vaishali M.; PATWARDHAN, Anand V. Ultrasound-assisted chemoenzymatic epoxidation of soybean oil by using lipase as biocatalyst. **Ultrasonics - Sonochemistry**, v. 40, p. 912–920, Aug. 2018.

BLANCO-ZUBIAGUIRRE, L. *et al.* Migration of photoinitiators, phthalates and plasticizers from paper and cardboard materials into different simulants and foodstuffs. **Food Chemistry**, v. 344, 128597, May 2021.

BLÁZQUEZ-BLÁZQUEZ, Enrique *et al.* Effect of thermo-oxidation on loss of plasticizers, on crystalline features and on properties in a metallocene isotactic polypropylene. **Polymer**, v. 181, 121749, Oct. 2019.

BOCQUÉ, Maëva *et al.* Petro-based and bio-based plasticizers: Chemical structures to plasticizing properties. **Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry**, v. 54, p. 11–33, 2016.

BOLINA, Iara C. A.; GOMES, Rafael A. B.; MENDES, Adriano A. Biolubricant Production from Several Oleaginous Feedstocks Using Lipases as Catalysts: Current Scenario and Future Perspectives. **Bioenergy Research**, v. 14, n. 4, p. 1039–1057, 2021.

BORUGADDA, Venu Badu; GOUD, Vaibhav V. Improved thermo-oxidative stability of structurally modified waste cooking oil methyl esters for bio-lubricant application. **Journal of Cleaner Production**, v. 112, p. 4515–4524, Jan. 2016.

BRASSEA-PÉREZ, Elizabeth *et al.* Oxidative stress induced by phthalates in mammals: State of the art and potential biomarkers. **Environmental Research**, v. 206, Apr. 2022.

BROSTOW, Witold; LU, Xinyao; OSMANSON, Allison T. Nontoxic bio-plasticizers for PVC as replacements for conventional toxic plasticizers. **Polymer Testing**, v. 69, p. 63–70, Aug. 2018.

CAI, Deng-Liang *et al.* A sustainable poly(vinyl chloride) plasticizer derivated from waste cooking oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 274, 122781, June 2020.

CARVALHO, Wagner C. A. *et al.* Eco-friendly production of trimethylolpropane triester from refined and used soybean cooking oils using an immobilized low-cost lipase (Evera® Transform 2.0) as heterogeneous catalyst. **Biomass and Bioenergy**, v. 155, Nov. 2021.

CASTRO, Heizir F.; *et al.* Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. **Química Nova**, v. 27, p. 146-156, 2004.

CERÓN, Annie A. *et al.* Synthesis of biolubricant by transesterification of palm kernel oil with simulated fusel: Batch and continuous processes. **Biomass and Bioenergy**, v. 119, p. 166-173, Dec.2018.

CÉSAR, Aldara da S. *et al.* The potencial of waste cooking oil as supply for the Brazilian biodisel chain. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 72, p. 246-253, Jan. 2017.

CHANG, W. *et al.* The effects of phthalate ester exposure on human health: A review. **Science of the Total Environment**, v.786, Sept. 2021.

CHAPUS, C.; SEMERIVA, M.; CHARLES, M.; DESNUELLE, P. Adsorption and activation of pancreatic lipase at interfaces. **Enzymes of Lipid Metabolism**, p. 57-68. 1978.

CORRÊA, F. D. A. *et al.* Epoxidation of oleic acid catalyzed by PSCI-Amano lipase optimized by experimental design. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 81, p. 7–11, Mar. 2012.

CUI, Caixia; CAI, Di. Lipase immobilization on high water adsorbing capacity bagasse : applications in bio-based plasticizer synthesis. **Molecular Biology Reports**, v. 45, p. 2095–2102, Sept. 2018.

CZOGAŁA, J.; PANKALLA, E.; TURCZYN, R. Recent attempts in the design of efficient pvc plasticizers with reduced migration. **Materials**, v. 14, n. 4, p. 1–28, Feb. 2021.

ERYTHROPEL, Hanno C. *et al.* Designing greener plasticizers: Effects of alkyl chain length and branching on the biodegradation of maleate based plasticizers. **Chemosphere**, v. 134, p. 106–112, Apr. 2015.

FENG, Guodong *et al.* An efficient bio-based plasticizer for poly (vinyl chloride) from waste cooking oil and citric acid: Synthesis and evaluation in PVC films. **Journal of Cleaner Production**, v. 189, p. 334–343, Apr. 2018.

FANGFANG, Fan; ALAGUMALAI, Avinash; MAHIAN, Omid. Sustainable biodiesel production from waste cooking oil: ANN modeling and environmental factor assessment. **Sustainable Energy Technologies and Assessments**, v. 46, 101265, Aug. 2021.

FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 62, p. 197–212, Mar. 2010.

GAO, Zhen *et al.* Waste cooking oil used as carbon source for microbial lipid production: Promoter or inhibitor. **Environmental Research**, v. 203, 111881, Jan. 2022.

GRECO, Antonio; FERRARI, Francesca; MAFFEZZOLI, Alfonso. Effect of the epoxidation yield of a cardanol derivative on the plasticization and durability of soft PVC. **Polymer Degradation and Stability**, v. 134, p. 220–226, Dec. 2016.

GRAND VIEW RESEARCH. Bio Plasticizers Market Size, Share | Global Industry Report 2014-2025. San Francisco, 2022. Disponível em: <https://www.grandviewresearch.com/industry-analysis/bio-plasticizers-market>. Acesso em: 12 maio 2022.

GUEDES JÚNIOR, José G. E. *et al.* Design of a sustainable process for enzymatic production of ethylene glycol diesters via hidroesterification of used soybean cooking oil. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 10, 107062, Feb. 2022.

GUPTA, Jharna; AGARWAL, Madhu; DALAI A. K. An overview on the recent advancements of sustainable heterogeneous catalysts and prominent continuous reactor for biodiesel production. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v.88,p. 58-77, Aug. 2020.

- HAITZ, Fabian *et al.* Chemo-Enzymatic Epoxidation of Lallemandia Iberica Seed Oil: Process Development and Economic-Ecological Evaluation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 185, n. 1, p. 13–33, 2018.
- HARVER, R. A.; FERRIER, D. R. **Bioquima Ilustrada**. 5ed. Porto Alegre: Artmed, 2012.
- HASSAN, Adell A. *et al.* Development, influencing parameters and interactions of bioplasticizers: An environmentally friendlier alternative to petro industry-based sources. **Science of the Total Environment**, v. 682, p. 394–404, Sept. 2019.
- HOSNEY, Hadeel *et al.* A cleaner enzymatic approach for producing non-phthalate plasticiser to replace toxic-based phthalates. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 22, p. 73-89, Jan. 2020a.
- HOSNEY, Hadeel; AL-SAKKARI, Eslam G.; MUSTAFA, Ahmad. Kinetics and Gibbs function studies on lipase-catalyzed production of non-phthalate plasticizer. **Journal of Oleo Science**, v. 69, p. 727-735, 2020b.
- HOSNEY, Hadeel; MUSTAFA, Ahmad. Semi-continuous production of 2-ethyl hexyl ester in a packed bed reactor: Optimization and economic evaluation. **Journal of Oleo Science**, v. 69, p. 31–41, Jan. 2020.
- INTITUTO DO PVC. O PVC é um plástico com características únicas. São Paulo, [ca. 2020]. Disponível em: <https://pvc.org.br/o-que-e-pvc/>. Acesso em: 15 jan. 2022.
- Jl, Yingrui *et al.* Synthesis and Characterization of Epoxidized Silkworm Pupae Oil and Its Application as Polyvinyl Chloride. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 194, p. 1290-1302, 2022.
- JIA, Puyou *et al.* Clean synthesis of epoxy plasticizer with quaternary ammonium phosphotungstate as catalyst from a byproduct of cashew nut processing. **Journal of Cleaner Production**, v. 206, p. 838–849, Jan. 2019.
- KIM, Heejin *et al.* Synthesis of diethylhexyl adipate by *Candida antarctica* lipase-catalyzed esterification. **Process Biochemistry**, v. 78, p. 58–62, Mar. 2019.
- KLÄHN, Marco *et al.* Effect of external and internal plasticization on the glass transition temperature of (Meth)acrylate polymers studied with molecular dynamics simulations and calorimetry. **Polymer**, v. 179, 121635, Sept. 2019.
- KOVALENKO, Galina; PERMINOVA, Larisa; BEKLEMISHEV, Anatoly. Heterogeneous biocatalytic esterification by recombinant *Thermomyces lanuginosus* lipase immobilized on macroporous carbon aerogel. **Catalysis Today**, v. 379, p. 36–41, Nov. 2021.
- LAI, O. *et al.* Lipase / Esterase : Properties and Industrial Applications. **Encyclopedia of Food Chemistry**, v. 2, p. 158-167, 2019.

LEE, Aree *et al.* Preparation of diisononyl adipate in a solvent-free system via an immobilized lipase-catalyzed esterification. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 131, 109340, Dec. 2019.

LEE, Sangium *et al.* Effect of the individual and combined use of cardanol-based plasticizers and epoxidized soybean oil on the properties of PVC. **Polymer Degradation and Stability**, v. 147, p. 1-11, Jan. 2018.

LI, Mei *et al.* Tung oil based plasticizer and auxiliary stabilizer for poly(vinyl chloride). **Materials and Design**, v. 122, p. 366–375, May 2017.

LIU, Dekai *et al.* Synthesis of an efficient bio-based plasticizer derived from waste cooking oil and its performance testing in PVC. **Polymer Testing**, v. 90, 106625, Oct. 2020.

LIU, Tao *et al.* Performance testing of a green plasticizer based on lactic acid for PVC. **Polymer Testing**, v. 61, p. 205–213, Aug. 2017.

LV, Niuniu *et al.* Epoxidation of Methyl Oleate and Subsequent Ring-Opening Catalyzed by Lipase from *Candida* sp. 99–125. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 120, p. 99-125, 2018.

MA, Yufeng. *et al.* Physical and chemical modifications of poly(vinyl chloride) materials to prevent plasticizer migration - Still on the run. **Reactive and Functional Polymers**, v. 147, 104458, Feb. 2020.

MACHADO, Natália. B. *et al.* Preparation, functionalization and characterization of rice husk silica for lipase immobilization via adsorption. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 128, p. 9–21, Sept. 2019.

MACRAE, A.R. Lipase-Catalyzed Interesterification of Oils and Fats. **Journal of The American Oil Chemists' Society**, v. 60, p.291–294, Feb. 1983.

MANSIR, Nasar *et al.* Modified waste egg shell derived bifunctional catalyst for biodiesel production from high FFA waste cooking oil. A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 3645-3655, Feb. 2018.

MELCHIORS, Mariana S. *et al.* Epoxidation of (R) - (+) -Limonene to 1, 2-Limonene Oxide Mediated by Low-Cost Immobilized *Candida antarctica* Lipase Fraction B. **Industrial Engineering Chemistry Research**, v. 58, p. 13918–13925, July 2019.

MÉNDEZ-SÁNCHEZ, Daniel *et al.* Chemoenzymatic epoxidation of alkenes based on peracid formation by a *Rhizomucor miehei* lipase-catalyzed perhydrolysis reaction. **Tetrahedron**, v. 70, p. 1144–1148, Feb. 2014.

MIGUEZ, João. P. *et al.* Enzymatic synthesis optimization of a cosmetic ester catalyzed by a homemade biocatalyst prepared via physical adsorption of lipase on amino-functionalized rice husk silica. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 139, p. 296–308, Nov. 2018.

MONTEIRO, Rodolpho R. C. *et al.* Biotechnological relevance of the lipase A from *Candida antarctica*. **Catalysis Today**, v. 362, p. 141-154, Feb. 2021a.

MONTEIRO, Rodolpho R. C. *et al.* Liquid lipase preparations designed for industrial production of biodiesel. Is it really an optimal solution? **Renewable Energy**, v. 164, p. 1566-1587, Feb. 2021b.

MUHLY, J. D. Copper and tin: the distribution of mineral resources and the nature of the metals trade in the Bronze Age. **Transactions of the Connecticut Academy of Arts and Sciences**, v. 43, p. 155-535, 1973.

MUKHERJEE, Sohini; GHOSH, Mahua. Studies on performance evaluation of a green plasticizer made by enzymatic esterification of furfuryl alcohol and castor oil fatty acid. **Carbohydrate Polymers**, v. 157, p. 1076–1084, Feb. 2017.

NAJAFI, Vahid; ABDOLLAHI, Hossein. Internally plasticized PVC by four different green plasticizer compounds. **European Polymer Journal**, v. 128, 109620, Apr. 2020.

NANDA, Sonil *et al.* Hydrothermal catalytic processing of waste cooking oil for hydrogen-rich syngas production. **Chemical Engineering Science**, v. 195, p. 935-945, Feb. 2019.

NG, Brandon. Y. S. *et al.* Production of sustainable two-stroke engine biolubricant ester base oil from palm fatty acid distillate. **Industrial Crops and Products**, v. 175, 114224, Jan. 2022.

OMRANI, Ismail *et al.* Synthesis of a bio-based plasticizer from oleic acid and its evaluation in PVC formulations. **Polymer Testing**, v. 56, p. 237–244, Dec. 2016.

OPPORTIMES. The 5 largest soybean exporters in the world. Cidade do México, 2022. Disponível em: <https://www.opportimes.com/the-5-largest-soybean-exporters-in-the-world/>. Acesso em: 20 may 2022.

ORELLANA-COCA, Cecília *et al.* Lipase mediated simultaneous esterification and epoxidation of oleic acid for the production of alkylepoxystearates. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 44, p. 133–137, Mar. 007.

PANCHAL, Tirth M. *et al.* A methodological review on bio-lubricants from vegetable oil based resources. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 70, p. 65-70, Apr. 2017.

PATIL, Sangram S.; JENA, Hara M. Performance assessment of polyvinyl chloride films plasticized with *Citrullus lanatus* seed oil based novel plasticizer. **Polymer Testing**, v. 101, 107271, Sept. 2021.

PLASTICSEUROPE. Plastics - the Facts 2020. Belgium, 2020. Disponível em: <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2020>. Acesso em: 06 Jan. 2022.

POUR, Azadeh K. *et al.* Mechanisms of biodegradation of dibenzoate plasticizers. **Chemosphere**, v. 77, p. 258-263, Sept. 2009.

- PYEON, Hye B.; PARK, Jeong E.; SUH, Dong H. Non-phthalate plasticizer from camphor for flexible PVC with a wide range of available temperature. **Polymer Testing**, v. 63, p. 375–381, Oct. 2017.
- REEVES, Carlton J.; SIDDAIAH, Arpith; MENEZES, Pradeep L. A Review on the science and technology of natural and synthetic biolubricants. **Journal of Bio- and Tribo-Corrosion**, v. 3, p. 1-27, Jan. 2017.
- RIOS, Luis A.; ECHEVERRI, David A.; FRANCO, Alexander. Applied Catalysis A : General Epoxidation of jatropa oil using heterogeneous catalysts suitable for the Prileschajew reaction : Acidic resins and immobilized lipase. **Applied Catalysis A, General**, v. 394, p. 132–137, Feb. 2011.
- RODRIGUES, Rafael C. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions. **Biotechnology Advances**, v. 37, p. 746–770, Sept. 2019.
- SARNO, Maria; IULIANO, Mariagrazia; CIRILLO, Cirillo. Optimized procedure for the preparation of an enzymatic nanocatalyst to produce a bio-lubricant from waste cooking oil. **Chemical Engineering Journal**, v. 377, 120273, Dec. 2019.
- STATISTA. Vegetable oils: global consumption 2013/14 to 2021/20211, by oil type. London, 2022. Disponível em: <https://www.statista.com/statistics/263937/vegetable-oils-global-consumption/>. Acesso em: 20 maio 2022.
- SINISI, Alessandro *et al.* Levulinic acid-based bioplasticizers: a facile approach to enhance the thermal and mechanical properties of polyhydroxyalkanoates. **Materials Advances**, v. 2, p. 7869-7880, Nov. 2022.
- SUSTAITA-RODRIGUEZ, Alejandro, et al. Lipase catalyzed epoxidation of fatty acid methyl esters derived from unsaturated vegetable oils in absence of carboxylic acid. **Chemistry Central Journal**, v. 12, Apr. 2018.
- SUZUKI, Andreia. H. *et al.* Sustainable synthesis of epoxidized waste cooking oil and its application as a plasticizer for polyvinyl chloride films. **European Polymer Journal**, v. 99, p. 142–149, Feb. 2018.
- SZELWICKA, Anna *et al.* Exceptionally active and reusable nanobiocatalyst comprising lipase non-covalently immobilized on multi-wall carbon nanotubes for the synthesis of diester plasticizers. **Applied Catalysis A, General**, v. 574, p. 41–47, Mar. 2019.
- TIAN, Yijun *et al.* A review on solid acid catalysis for sustainable production of levulinic acid and levulinate esters from biomass derivatives. **Bioresource Technology**, v. 342. 125977, 2021.
- TRANSPARENCY MARKET RESEARCH. Phthalate Plasticizer Market – Global Industry Analysis, Size, Share, Growth, Trends, and Forecast, 2021-2031. Albany, 2021. Disponível em: <https://www.transparencymarketresearch.com/phthalate-plasticizer-market.html>. Acesso em: 20 maio 2022.

WANG, Junyang; ZHAO, Xuebing; LIU, Dehua. Preparation of Epoxidized Fatty Acid Methyl Ester with in situ Auto-Catalysed Generation of Performic Acid and the Influence of Impurities on epoxidation. **Waste Biomass Valor**, v. 9, p. 1881-1891, 2018.

TAN, Jihuai *et al.* Design and synthesis of ethoxylated esters derived from waste frying oil as anti-ultraviolet and efficient primary plasticizers for poly(vinyl chloride). **Journal of Cleaner Production**, v. 229, p. 1274–1282, Aug. 2019.

VERGER, R.; DE HAAS, G.H. Intersfacial enzyme kinetics of lipolysis. **Annual Review of Biophysics and Bioengineering**, v. 5, 1976.

VESCOVI, V. *et al.* Improved catalytic properties of *Candida antarctica* lipase B multi-attached on tailor-made hydrophobic silica containing octyl and multifunctional amino-glutaraldehyde spacer arms. **Process Biochemistry**, v. 51, p. 2055-2066, Dec. 2016.

WYPYCH, Anna. **Databook of plasticizers**. 2ed. {s.l.}: Elsevier, 2017. Ebook, p. 83-130.

ZAINAL, N. A. *et al.* A review on the chemistry, production, and technological potential of bio-based lubricants. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 80–102, Feb. 2018.

ZANETTE, A. F. *et al.* Chemo-enzymatic epoxidation catalyzed by *C. antarctica* lipase immobilized in microemulsion-based organogels. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 107, p. 89–94, Sept. 2014.

ZHANG, S. *et al.* Effect of Additives on the Rheological and Mechanical Properties of Microfine-Cement-Based Grout. **Advances in Materials Science and Engineering**, v.2019, Aug. 2019a.

ZHANG, T. *et al.* An Efficient Strategy for the Production of Epoxidized Oils: Natural Deep Eutectic Solvent-Based Enzymatic Epoxidation. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 96, p. 671–679, Apr. 2019b.

4 ARTIGO I- PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES DECÍLICOS POR HIDROESTERIFICAÇÃO DE ÓLEO DE SOJA REFINADO E DE FRITURA

RESUMO

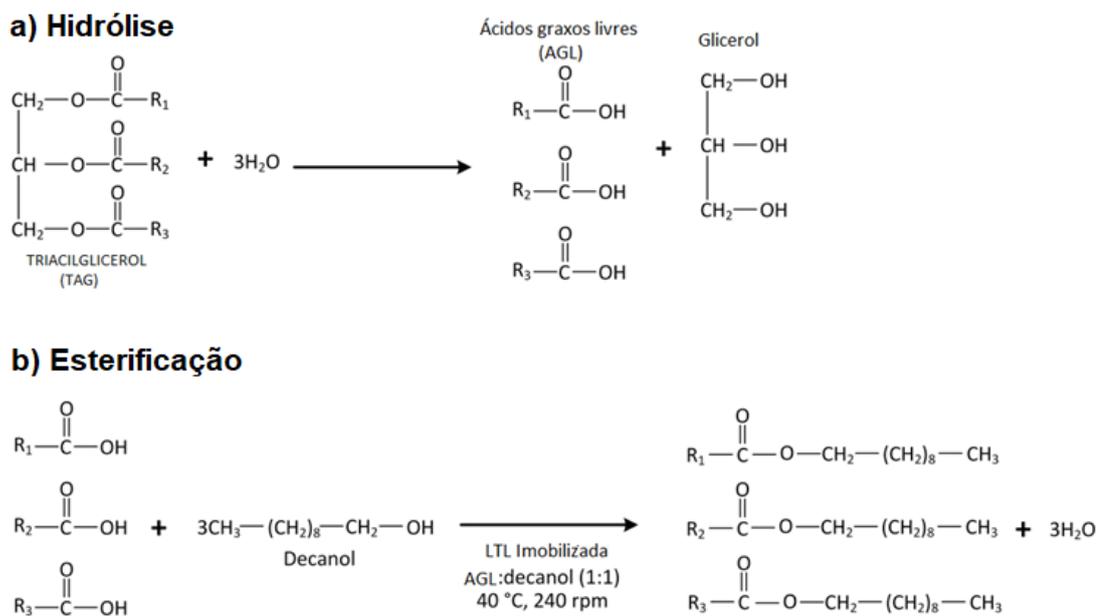
Este capítulo descreve a produção enzimática de ésteres decílicos a partir da hidroesterificação dos óleos de soja refinado (OSR) e de fritura (OF). Este processo consiste na hidrólise enzimática dos óleos catalisada por lipase de *Candida rugosa* (LCR) na forma de extrato bruto, seguido da esterificação dos ácidos graxos obtidos (AGL) por esterificação em meio livre de solventes. Na etapa de esterificação, o biocatalisador heterogêneo foi preparado por adsorção física de lipase de *Thermomyces lanuginosus* (LTL-SiO₂) em partículas de sílica de casca de arroz. De acordo com os resultados obtidos, a hidrólise completa dos óleos foi observada após 180 min de reação em sistemas livres de emulsificantes e agentes tamponantes. Elevada porcentagem de conversão dos ácidos graxos livre do óleo de soja refinado e óleo de fritura, da ordem de 86%, foi observada após 90-150 min de reação. Nestas mesmas condições, lipase de *Thermomyces lanuginosus* livre alcançou uma porcentagem de conversão de apenas 30-40% na reação de esterificação. Testes de reuso do biocatalisador revelaram maior estabilidade após 15 bateladas sequencias de esterificação empregando AGL de OSR – retenção de atividade quatro vezes maior que o sistema de reação com AGL de OF (40% e 10%, respectivamente). As propriedades térmicas dos ésteres foram caracterizadas por análise de termogravimetria (ATG) e calorimetria exploratória diferencial (DSC). Estes resultados mostram a promissora aplicação de SiO₂ de casca de arroz, um resíduo agroindustrial de fácil obtenção, para a preparação de biocatalisadores ativos na produção do ésteres decílicos, uma classe de compostos de grande interesse para a indústria oleoquímica, incluindo a sua aplicação como potenciais bioplastificantes.

4.1 INTRODUÇÃO

Ésteres decílicos são compostos orgânicos que apresentam propriedades físico-químicas atrativas para aplicação como biolubrificantes (SABI *et al.*, 2022). Além disso, eles são ésteres de cera que podem ser também aplicados em formulações cosméticas para a estabilização de emulsões (MIGUEZ *et al.*, 2018). A aplicação desta classe de compostos químicos como potenciais bioplastificantes ainda é pouco descrita na literatura especializada. Este estudo

pioneiro consiste na produção de ésteres decílicos empregando matérias-primas provenientes do óleo de soja e de fritura, as reações envolvidas neste processo são mostradas na Figura 4. A produção mundial de óleo de soja em 2020/2021 foi de aproximadamente 60 milhões de toneladas. Atualmente, o Brasil é o um dos maiores produtores mundiais (SABI *et al.*, 2022). Ele tem sido amplamente empregado no processamento de alimentos e a geração de óleo residual é bastante elevada no país. Conseqüentemente, o uso de óleo de fritura como matéria-prima para a produção de compostos de interesse industrial é de grande relevância porque pode minimizar seus impactos negativos no meio ambiente. Além disso, trata-se de uma matéria-prima de fácil obtenção e de baixo custo (CARVALHO *et al.*, 2021; GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022).

Figura 4 - Esquema representativo da hidrólise enzimática de triacilgliceróis com extrato bruto em pó de lipase de *Candida rugosa* (LCR) (a) e esterificação dos ácidos graxos livres obtidos com decanol empregando lipase de *Thermomyces lanuginosus* (LTL) imobilizada em partículas de sílica (b).



Fonte: Do autor.

Com o intuito de estabelecer um protocolo mais tecnologicamente limpo, o presente estudo tem como objetivo a produção de ésteres decílicos a partir da hidroesterificação enzimática de óleos de soja refinado (OSR) e de fritura (OF). Este processo trata-se da sequencial hidrólise de óleos, seguido de esterificação dos AGL livres obtidos. Este processo tem sido amplamente empregado na produção de ésteres de interesse industrial porque permite empregar matérias-primas de baixa qualidade como os AGL e o glicerol produzido, subproduto do processo de hidrólise, possui maior pureza se comparado ao glicerol obtido por transesterificação de óleos e gorduras (POURZOLFAGHAR *et al.*, 2016). Na etapa de

hidrólise, foi empregada uma preparação de lipase de *Candida rugosa* (LCR), uma enzima não-específica e que possibilita hidrólise completa de ligações ésteres em diferentes óleos e gorduras (CARVALHO *et al.*, 2021; GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2022). Na etapa de esterificação, foi empregada a lipase de *Thermomyces lanuginosus*, uma lipase altamente ativa em reações de produção de ésteres industriais (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010), imobilizada em partículas de sílica obtidas por processamento hidrotérmico de casca de arroz, um resíduo agroindustrial comumente encontrado no país.

4.2 MATERIAIS E MÉTODOS

4.2.1 Materiais

Lipase líquida de *Thermomyces lanuginosus* (LTL) com atividade hidrolítica de 27.302,4 U mL⁻¹ de extrato bruto e uma concentração de proteína de 17,2 mg mL⁻¹, lipase de *Candida rugosa* do Tipo VII (LCR) com atividade enzimática de 16200 U g⁻¹ de extrato bruto e concentração de proteína de 24,5 mg g⁻¹, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Cascas de arroz foram adquiridas pela empresa Arroz Rei Ouro Ltda. (Itajubá, MG, Brasil). Decanol também foi adquirido da Sigma-Aldrich. Óleo de soja refinado (OSR) de baixa acidez (Liza) foi adquirido em um mercado local (Alfenas, MG, Brasil) com uma composição de ácidos graxos (% m m⁻¹); 10,7% palmítico, 3,0% esteárico, 24,0% oleico, 56,7% linoleico, 5,4% linolênico e 0,1% araquídico (SANTOS *et al.*, 2013), com massa molecular de 873,9 g mol⁻¹. Óleo de fritura (OF) foi coletado após o uso em um restaurante *fast-food* na cidade de Alfenas (MG, Brasil). Os outros reagentes químicos e solventes orgânicos foram de grau analítico adquiridos da Synth[®] (São Paulo, SP, Brasil).

4.2.2 Metodologia

Neste estudo, os ésteres decílicos foram produzidos pela hidroesterificação enzimática de óleo de soja refinado e óleo de fritura.

4.2.2.1 Hidrólise enzimática do óleo de soja refinado

A produção de ácidos graxos livres (AGL) via hidrólise enzimática do OSR foi realizada em um reator fechado de 250 mL contendo 50 g de uma mistura contendo água: óleo na fração de 50% m m⁻¹ sob contínua agitação mecânica. O sistema reacional foi imerso em um banho termostático com temperatura controlada. A reação foi iniciada com a adição da LCR. Amostras (1 g) foram periodicamente retiradas do sistema reacional com uma micropipeta e transferidas para um Erlenmeyer de 125 mL, seguido pela adição e 10 mL de etanol 95% v v⁻¹ e tituladas com solução de NaOH 30 mmol L⁻¹ empregando fenolftaleína como indicador. A reação foi realizada em duplicata. A porcentagem de hidrólise (HP - %) foi determinada usando a seguinte equação (Eq. (1)) (ROONEY; WEATHERLEY, 2001).

$$HP = \frac{V_{NaOH} \times 10^{-3} \times M_{NaOH} \times MM_{AGL}}{m_{amostra} \times f} \times 100 \quad (1)$$

Em que: V_{NaOH} é o volume de solução de NaOH gasto durante a titulação (mL), M_{NaOH} é a concentração molar da solução de NaOH (30 mmol L⁻¹), MM_{AGL} é a massa molecular média dos ácidos graxos do óleo de soja (278,6 g mol⁻¹), $m_{amostra}$ é a massa de alíquota retirada do sistema (1 g), e f é a fração de óleo no início da reação ($f=0,5$ – que corresponde a 50% m m⁻¹ de OSR).

Diferentes cargas de LCR, de 30 U g⁻¹ ou 1,85 mg de extrato bruto g⁻¹ de meio de reação a 60 U g⁻¹ ou 3,7 mg de extrato bruto de lipase g⁻¹ de meio de reação, foram estudados. A variação de temperatura foi entre 25°C a 50°C (com um intervalo de 5°C). A agitação foi variada entre 0 e 2000 rpm (com um intervalo de 500 rpm).

4.2.2.2 Hidrólise enzimática do óleo de fritura

A produção de AGL usando o óleo de soja refinado foi conduzida como descrito na seção 2.2.1. As variáveis estabelecidas para o OSR foram aplicadas na hidrólise do OF: carregamento de LCR de 50 U g⁻¹ (ou 3,1 mg de extrato bruto por grama de meio reacional), temperatura de reação de 40°C e agitação mecânica de 1500 rpm. Nestes experimentos, foram estudadas as frações mássicas de óleo:água, variando de 30% a 50% m m⁻¹.

4.2.2.3 Extração de ácidos graxos livre

A mistura reacional (50 g) foi conduzida para um funil de separação e adicionado 50 mL e água destilada a 50°C (vazão volumétrica de 1:1). A fase superior do sistema (consistido em AGL) foi separada da fase aquosa (contendo glicerol, LCR e água). A lavagem com água foi procedida por quatro vezes para purificação dos AGL. Sequencialmente, foi adicionado nos AGL purificados sulfato de sódio anidro (20% m m⁻¹) por 18 h a 25°C em repouso para remover resíduo de água. Os AGL produzidos foram usados, juntamente com decanol, como reagentes para a produção de ésteres por esterificação em meio livre de solventes.

4.2.2.4 Preparação das partículas de sílica de casca de arroz

As partículas de SiO₂ provenientes da casca de arroz foram obtidas pelo processo hidrotérmico seguindo a metodologia proposta por MACHADO et al. (2019). Inicialmente, cascas de arroz foram secas por 15 h a 80°C em estufa. Cerca de 30 g de casca previamente seca foram refluxadas com 400 mL de solução preparada com água deionizada e ácido clorídrico (35% m m⁻¹) na proporção de 9:1. O sistema foi mantido por 2 h a 120°C. Em seguida, as cascas foram filtradas em funil de Buchner, lavadas com água deionizada e calcinadas em forno mufla a 700°C por 4 h para a obtenção das partículas de sílica (SiO₂). A porcentagem de rendimento de SiO₂ foi da ordem de 11% em massa seca inicial (MACHADO *et al.*, 2019).

4.2.2.5 Imobilização de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em partículas de sílica

A imobilização de LTL foi realizada em pH 5,0 (tampão acetato de sódio – 5 mmol L⁻¹) na relação suporte/solução enzimática 1:19, aplicando um carregamento inicial de proteína de 40 mg g⁻¹ de suporte (GAMA *et al.*, 2019). A suspensão enzima:suporte foi mantida sob constante agitação mecânica em shaker orbital (200 rpm) com controle de temperatura (25°C) por 18 h. Em seguida, o biocatalisador heterogêneo preparado foi filtrado sob vácuo em funil de Buchner empregando papel de filtro Whatman n°41 e lavado com água destilada para a remoção de moléculas de enzima não adsorvidas. O processo de adsorção física foi monitorado pela determinação da concentração de proteína (PI – mg g⁻¹), de acordo com método de Bradford (1976), e atividade hidrolítica desaparecidas no sobrenadante de imobilização. O rendimento de imobilização (RI – %) foi determinado pela relação entre a atividade hidrolítica desaparecida na imobilização e a atividade inicialmente oferecida (CARVALHO *et al.*, 2021). A atividade específica (AE – U mg⁻¹) foi determinada pela relação entre a atividade hidrolítica

dos biocatalisadores preparados e a concentração de proteína imobilizada (CARVALHO *et al.*, 2021). O biocatalisador preparado neste trabalho foi chamado “LTL-SiO₂”.

A atividade hidrolítica do biocatalisador preparado foi determinada na hidrólise do azeite de oliva na emulsificação com goma arábica em pH 8,0 (tampão fosfato de sódio 100 mmol L⁻¹), 37°C e 200 rpm (ALVES *et al.*, 2017). A atividade específica dos biocatalisadores foi determinada pela relação entre a atividade hidrolítica e a concentração de proteína imobilizada (ALVES *et al.*, 2017; MACHADO *et al.*, 2019). Uma unidade internacional (1 U) foi definida como a massa de biocatalisador necessária para liberar no sistema 1 µmol por minuto de AGL em reações conduzidas em pH 8,0 a 37 °C. A atividade específica foi definida pela razão entre a atividade hidrolítica (AH) e a concentração de proteína (U mL⁻¹ ou U mg⁻¹ de proteína livre ou imobilizada pelo biocatalisador livre ou imobilizado, respectivamente).

4.2.2.6 Produção de ésteres decílicos via esterificação em sistemas isentos de solvente

Ésteres decílicos foram produzidos via esterificação enzimática dos AGL produzidos pela hidrólise enzimática de OSR e OF e decanol em sistemas isentos de solventes orgânicos. As reações foram conduzidas em frascos de vidro abertos(100 mL) contendo concentrações estequiométricas (razão molar AGL:decanol de 1:1) dos materiais de partida (5,1g de AGL + 2,9 g de decanol – 8 g) imersos em shaker orbital com controle de temperatura (40°C) e agitação mecânica (240 rpm). As reações foram iniciadas pela adição do biocatalisador heterogêneo preparado (LTL-SiO₂) na proporção de 40 mg de proteína (ou 5 mg de proteína g⁻¹ de meio reacional – massa total de biocatalisador de 1,5 g). As reações também foram conduzidas utilizando a lipase na forma solúvel nas mesmas condições e carregamento inicial de proteína que corresponde a 2,32 mL de extrato enzimático bruto. Periodicamente, alíquotas de 50 µL foram retiradas dos sistemas de reação e diluídas em 10 mL de solução de etanol (95% v v⁻¹) e tituladas com solução de NaOH (30 mmol L⁻¹) usando fenolftaleína como indicador. As reações de esterificação foram realizadas em duplicatas. A porcentagem de conversão dos AGL foi calculada utilizando a (Eq. (2)) (LAGE *et al.*, 2016; ALVES *et al.*, 2017):

$$Y = \left(\frac{AGL_0 - AGL_t}{AGL_0} \right) \times 100 \quad (2)$$

Em que: AGL_0 e AGL_t são as concentrações iniciais e finais dos AGL em um determinado intervalo de tempo da reação (mol L⁻¹), respectivamente.

4.2.2.7 Estabilidade operacional do biocatalisador

A estabilidade operacional (reuso) de LTL-SiO₂ foi realizada após quinze consecutivos ciclos de reações de esterificações em modo batelada usando os AGL do OSR e OF nas condições experimentais estabelecidas, conforme descrito acima. Após cada ciclo de reação, LTL-SiO₂ foi recuperado via filtração em funil de Buchner, lavada com hexano gelado para remover moléculas de substratos e produtos da reação, e seco a vácuo por 2 h a 25°C. Posteriormente, o biocatalisador foi reintroduzido em um novo meio reacional. A porcentagem de conversão foi calculada após cada ciclo de reação.

4.2.2.8 Purificação dos ésteres

Os sistemas de reação foram filtrados em funil de Buchner à vácuo para recuperar o biocatalisador heterogêneo. Os ésteres decílicos produzidos foram purificados por coluna de sílica gel (Waters Sep-Pak[®] Vac – 10 g) usando uma mistura de solventes hexano:acetato de etila como eluente com os seguintes gradientes de eluição (9:1; 8:2; 7:3 e 1:1 v v⁻¹). As frações com os ésteres decílicos foram coletadas e a mistura de solventes foi removida por rotaevaporação a 50°C. Os ésteres foram mantidos em sulfato de sódio anidro (20% m v⁻¹) por 24 h a 25°C para a remoção de traços de água.

4.2.2.9 Análise térmica dos ésteres produzidos

Análises de termogravimetria (ATG) e calorimetria exploratório diferencial (CED) foram realizadas em um equipamento modelo SDT-Q600 (TA Instruments) operando a uma taxa de aquecimento de 10 °C min⁻¹ em ambiente oxidante com fluxo de ar de 100 mL min⁻¹. Nestes testes, foram empregadas 7 mg de cada amostra.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.3.1 Hidrólise enzimática de óleo de soja refinado: efeito dos parâmetros na reação de hidrólise

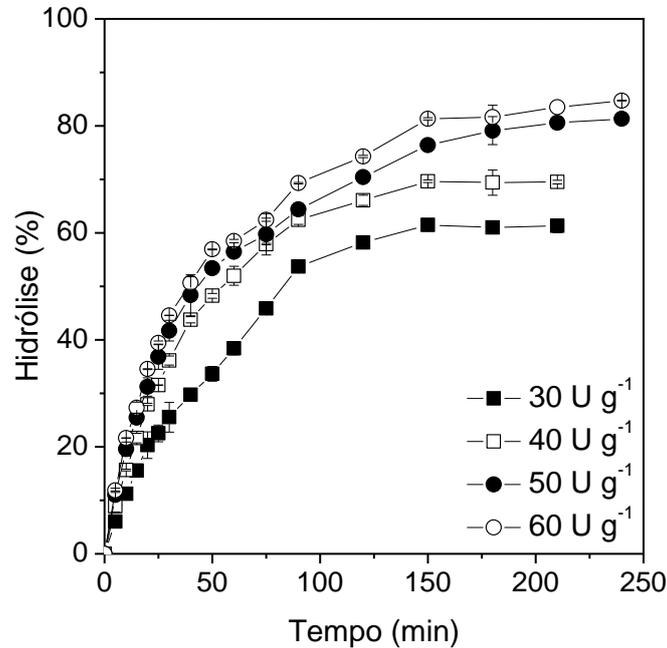
Neste conjunto de ensaios, investigou-se o efeito de parâmetros relevantes como concentração de LCR, temperatura de reação e velocidade de agitação na reação de hidrólise. A seleção desses parâmetros foi devido à importância destes fatores em reações de hidrólise enzimática de diferentes óleos vegetais (SANTOS *et al.*, 2013; BRESSANI *et al.*, 2015; BARBOSA *et al.*, 2019; CORRADINI *et al.*, 2019). Neste estudo, as reações de hidrólise dos óleos foram conduzidas em sistemas livre de emulsificantes, como goma arábica, e agentes tamponantes, o que constitui em uma interessante estratégia ao considerar os aspectos ambientais e econômicos, uma vez que são necessárias menos etapas operacionais na separação/purificação dos AGL produzidos.

4.3.1.1 Efeito da concentração de lipase de *Candida rugosa*

Inicialmente, foi avaliado o efeito da concentração de LCR variando de 30 U g⁻¹ a 60 U g⁻¹ da mistura de reação, o que corresponde a 1,85 mg_{proteína} g⁻¹ e 3,7 mg_{proteína} g⁻¹, respectivamente, de modo a determinar a mínima concentração de biocatalisador necessária para obter a máxima porcentagem de hidrólise. De acordo com a Figura 5, um aumento na concentração de LCR na mistura de reação de 30 para 50 U g⁻¹ proporcionou um aumento na porcentagem de hidrólise de 61,5% em 150 min de reação para 81,3% em 240 min de reação, conforme a metodologia descrita na literatura (BARBOSA *et al.*, 2019; CORRADINI *et al.*, 2019).

O aumento da concentração de enzima no sistema fornece um maior número de sítios ativos para a formação do complexo acil-enzima e conseqüentemente formação do produto (AGL). Entretanto, com o aumento adicional de enzima (60 U g⁻¹) não foi possível observar um aumento na produção de AGL – porcentagem de hidrólise de 83,5% após 240 min de reação. Estes resultados indicam uma possível saturação das gotículas de óleo com as moléculas de enzima com carregamento acima de 50 U g⁻¹ de mistura de reação. Conseqüentemente, testes subsequentes foram conduzidos com 50 U g⁻¹ de LCR que corresponde a uma concentração de extrato enzimático bruto na forma em pó de 3,2 mg g⁻¹ de meio reacional (3,2 g L⁻¹).

Figura 5 - Efeito da concentração de lipase de *Candida rugosa* na hidrólise do óleo de soja refinado. A reação de hidrólise foi realizada sob agitação mecânica de 1000 rpm, 35°C e razão mássica óleo/água de 50% ($m\ m^{-1}$)



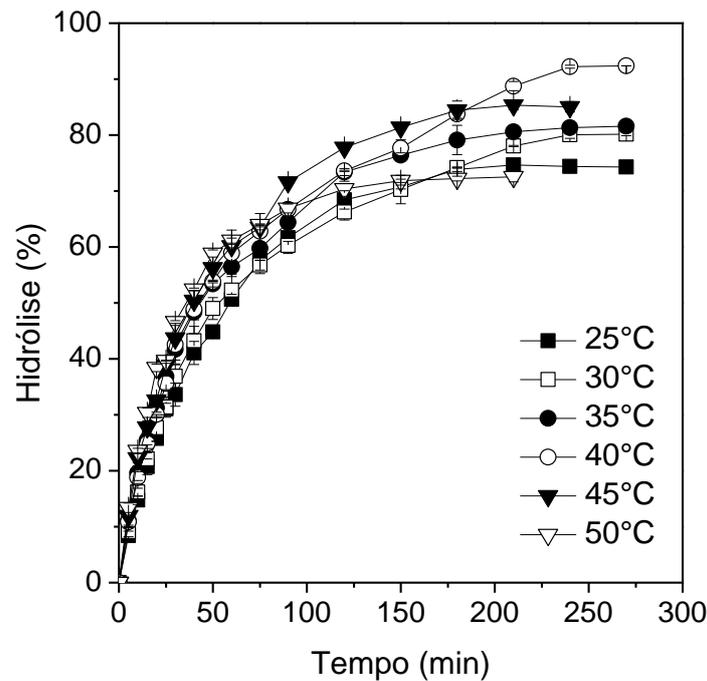
Fonte: Do autor.

4.3.1.2 Efeito da temperatura da reação

A temperatura é um importante fator na produção de AGL via hidrólise enzimática de triacilgliceróis, uma vez que o aumento da temperatura leva à uma redução da viscosidade da mistura de reação que melhora a afinidade entre moléculas de lipase e substrato na interface óleo/água, consequentemente aumentando a porcentagem de hidrólise (SANTOS *et al.*, 2013; BRESSANI *et al.*, 2015). Por outro lado, um aumento adicional pode alterar a estrutura tridimensional das lipases, resultando na perda de sua atividade catalítica e, portanto, diminuindo a porcentagem de hidrólise (SANTOS *et al.*, 2013). Neste estudo, as reações de hidrólise foram realizadas sob diferentes temperaturas de reação (de 25°C a 50°C) em diferentes tempos de reação empregando 50 U g⁻¹ de LCR. Como pode ser observado na Figura 6, o aumento da temperatura da reação de 25°C a 40°C resultou em uma melhoria na produção de AGL devido a um aumento do número de colisões efetivas entre gotículas de enzima e óleo, como esperado.

Nessas condições, a porcentagem de hidrólise variou de 74,7% a 92,2% em 210 e 240 min, respectivamente. Entretanto, um aumento adicional da temperatura da reação resultou na redução de atividade catalítica do LCR por sua possível inativação térmica e, conseqüentemente, foi observada uma redução da porcentagem de hidrólise acima de 40°C - porcentagem máxima de hidrólise de 85,2 e 72,3% após 210 min de reação a 45°C e 50°C, respectivamente. A partir desses resultados, a máxima atividade catalítica para LCR foi observada a 40°C, de acordo com estudos anteriores conduzidos para a hidrólise do óleo de soja em sistemas tamponados (pH 7,0 – tampão fosfato de sódio 100 mmol L⁻¹) empregando LCR na forma de extrato enzimático bruto – lipase em pó (FREITAS *et al.*, 2007; CAVALCANTI *et al.*, 2018). Assim, outros testes foram conduzidos a 40°C.

Figura 6 - Efeito da temperatura da reação na hidrólise do óleo de soja refinado. As reações foram realizadas sob agitação mecânica de 1000 rpm, carga inicial de LCR de 50 U g⁻¹ de mistura de reação e razão mássica óleo/água de 50% (m m⁻¹)



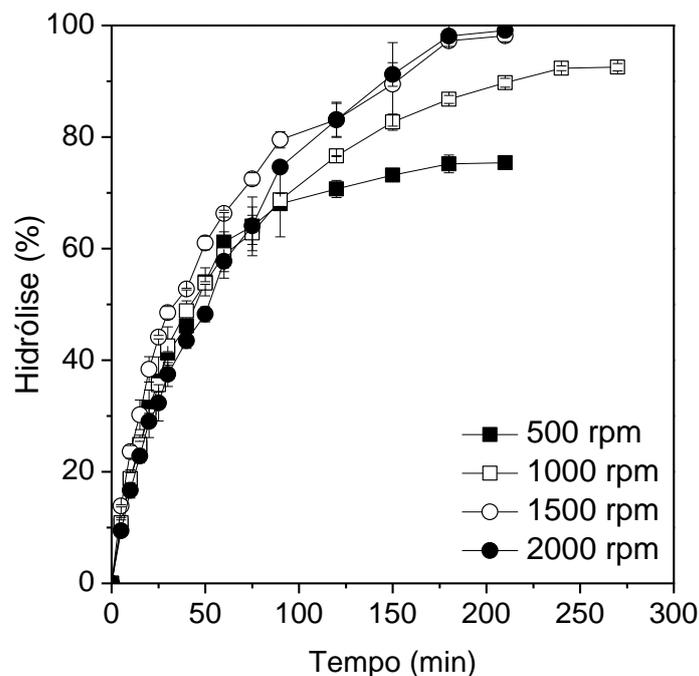
Fonte: Do autor.

4.3.1.3 Efeito da velocidade de agitação

A hidrólise enzimática de triacilgliceróis é fortemente limitada pela interação entre lipase e gotículas de óleo, assim, uma velocidade de agitação intensa é necessária para reduzir o tamanho das gotículas de óleo e aumentar a área interfacial da emulsão, melhorando assim a

produção de AGL (BREISSANI *et al.*, 2015). Alguns estudos anteriores reportados pela literatura especializada demonstraram o uso promissor de emulsificantes e/ou agentes de tamponamento para formar emulsões estáveis entre óleo/água (ROONEY; WEATHERLEY, 2001; MCCLEMENTS; WEISS, 2005; SANTOS *et al.*, 2013; PAPADAKI *et al.*, 2018). Neste estudo, a hidrólise do óleo de soja foi conduzida em um sistema isento de emulsificantes e de agentes tamponantes, uma abordagem altamente interessante do ponto de vista industrial. Assim, uma alta dispersão de gotículas de óleo no meio de reação pode ser alcançada por uma velocidade de agitação mecânica adequada. O efeito da velocidade de agitação mecânica foi estudado entre 500 a 2000 rpm em condições experimentais fixas – 50 U g⁻¹ de LCR e 40°C (Figura 7).

Figura 7 - Efeito da velocidade de agitação mecânica na hidrólise do óleo de soja refinado. As reações foram realizadas sob carga inicial de 50 U g⁻¹ de mistura de reação, 40°C e razão mássica óleo/água de 50% (m m⁻¹)



Fonte: Do autor.

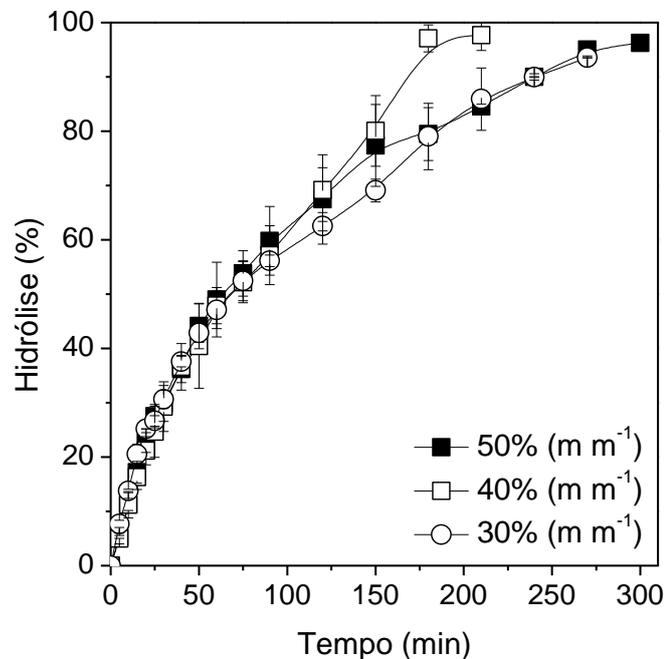
Um estudo preliminar realizado em condições estáticas (0 rpm) foi realizado, porém não foi observada a produção de AGL (dados não mostrados). Como esperado, um aumento na frequência de agitação mecânica de 500 a 1500 rpm apresentou um efeito positivo na acessibilidade das moléculas de lipase às gotículas de óleo na interface óleo/água. Sob tais condições experimentais, a porcentagem de hidrólise variou de 75,3% (500 rpm e 210 min de reação) a 98% (1500 rpm e 180 min de reação), como mostrado na Figura 7. Resultado

semelhante foi observado na mais elevada velocidade de agitação mecânica (2000 rpm) - 98,5% após 180 min de reação. Com base nesses resultados, a reação de hidrólise realizada a 1500 rpm foi escolhida para produzir AGL.

4.3.1.4 Produção de ácidos graxos livres usando óleo de fritura

As condições experimentais que promoveram a máxima produção de AGL a partir da hidrólise de OSR foram aplicadas na hidrólise de óleo de fritura (OF): 50 U g⁻¹ de LCR, 40°C, e velocidade de agitação mecânica de 1500 rpm empregando razão mássica óleo/água de 50% (m m⁻¹). De acordo com a Figura 8, foi obtida uma porcentagem de hidrólise de 85% após 180 min de reação sob tal condição, o que difere dos resultados obtidos para OSR (98% em 180 min). Isso poderia ser atribuído a um possível aumento da viscosidade do óleo após o processamento térmico em função da possível formação de compostos de alta massa molecular por reações paralelas como interesterificação e oxidação (SANTOS *et al.*, 2013). Estas reações indesejáveis poderiam reduzir a dispersão de gotículas de óleo no meio e, conseqüentemente, a atividade catalítica da lipase.

Figura 8 - Efeito da razão mássica óleo/água na hidrólise enzimática do óleo de fritura. As reações foram realizadas sob carga inicial de 50 U g⁻¹ de mistura de reação, 40°C e velocidade de agitação mecânica de 1500 rpm



Fonte: Do autor.

De fato, a alta concentração de óleo no meio também pode promover possível coalescência (agregação) de gotículas de óleo e reduzir drasticamente a interação entre moléculas de lipase e gotículas de óleo na interface óleo/água (MCCLEMENTS; WEISS, 2005; SANTOS *et al.*, 2013). Assim, ensaios subsequentes foram conduzidos em menores razões mássicas óleo/água de 30% e 40% (m m^{-1}), a fim de obter uma mistura de reação com dispersão satisfatória das moléculas de substrato e lipase. Como esperado, completa hidrólise do OF foi alcançada após 180 min de reação a 40% m m^{-1} . Isso indica uma melhor dispersão das gotículas de óleo na mistura de reação que melhorou sua interação com as moléculas de LCR, confirmando assim a forte influência das propriedades reológicas da mistura de reação na hidrólise enzimática de triacilgliceróis.

Em um estudo realizado em nosso grupo, foi verificada uma diminuição na produção de AGL em elevadas concentrações de óleo no meio de reação na hidrólise enzimática de óleo de macaúba catalisada por extrato de lipase bruta extraída de sementes de mamona (BRESSANI *et al.*, 2015). Por outro lado, a reação de hidrólise realizada a 30% (m m^{-1}) exibiu um perfil semelhante obtido na maior razão mássica óleo/água (50% m m^{-1}) devido a um possível efeito de diluição das moléculas de LCR na mistura de reação, reduzindo o número de colisões entre lipase e gotas de óleo. Nesse sentido, a produção de AGL a partir da hidrólise enzimática de OF foi realizada a 40% m m^{-1} .

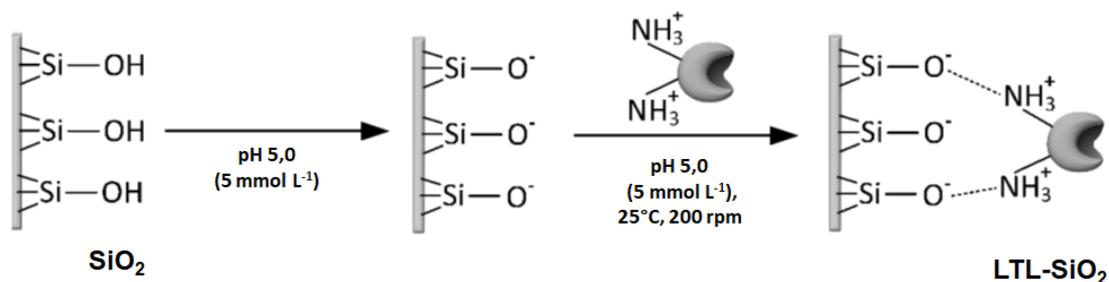
4.3.2 Caracterização do biocatalisador heterogêneo preparado (LTL-SiO₂)

A imobilização de LTL via adsorção física em partículas de SiO₂ proveniente da casca de arroz foi conduzida em condições experimentais fixadas (pH 5,0, tampão acetato de sódio 5 mmol L⁻¹ a 25°C). Essas condições experimentais de imobilização foram estabelecidas previamente em estudos anteriores (MACHADO *et al.*, 2019). Neste estudo, a imobilização da enzima no suporte preparado foi conduzida em baixa força iônica (5 mmol L⁻¹) com o intuito de minimizar a interferência de íons da solução-tampão no processo de adsorção. O esquema de imobilização de LTL nestas condições experimentais são mostradas na Figura 9.

Sílica de casca de arroz é um suporte com alta capacidade de retenção de água devido à alta densidade de grupos silanóis em sua estrutura ($-\text{Si}-\text{OH}$), conforme mostrado na Figura 9 acima, e possui ponto isoelétrico (pI) entre pH 1,0 e 2,0 (PINEDA-VASQUEZ *et al.*, 2014; SETIAWAN *et al.*, 2021). Portanto, o suporte preparado possui caráter aniônico em pH 5,0 devido à desprotonação dos grupos silanóis ($-\text{Si}-\text{O}^-$) em sua superfície (WOLAK *et al.*, 2019).

Nesta condição (pH 5,0), LTL também possui uma maior densidade de grupos aniônicos, pois seu pI é pH 4,4 (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010). No entanto, o grupo amino terminal da enzima (pK_a entre 6,5 e 7,0) e os grupos amino dos resíduos lisina e arginina em sua superfície estão em suas formas protonadas ($-\text{NH}_3^+$). Uma alta densidade desses grupos pode ser observada na região oposta ao seu sítio ativo (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010), possibilitando interações iônicas por essa região de superfície com os grupos aniônicos do suporte (ver Figura 9). Dessa forma, o processo de adsorção ocorre preferencialmente via interações iônicas de grupos negativos do suporte (SiO_2) com grupos positivos de LTL (grupos amino protonados). Portanto, é possível que as moléculas de lipase adsorvidas neste suporte podem ser orientadas para o meio reacional (Figura 9). A interação entre LTL/ SiO_2 pode também proceder via ligações de hidrogênio com grupos silanóis não protonados na superfície do suporte.

Figura 9 - Esquema representativo de imobilização via adsorção de lipase de *Thermomyces lanuginosus* em partículas de SiO_2 de casca de arroz em tampão acetato de sódio (pH 5,0) empregando baixa força iônica (5 mmol L^{-1})



Fonte: Do autor.

Os parâmetros de imobilização de LTL via adsorção com o suporte preparado foram determinados e comparados com as propriedades da enzima na forma livre (solúvel), conforme pode ser observado na Tabela 3. De acordo com os resultados obtidos, foi observada uma máxima concentração de proteína imobilizada de $26,8 \pm 2,2 \text{ mg g}^{-1}$ de suporte empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg g^{-1} . Estes resultados mostram claramente que a aplicação do suporte preparado é bastante promissora na preparação de biocatalisadores ativos em reações de esterificação porque possibilita a imobilização de alta concentração de proteína.

O diâmetro médio dos poros do suporte preparado é de 36 \AA (MACHADO *et al.*, 2019). LTL é uma enzima com diâmetro molecular médio de $53,2 \text{ \AA}$ (LAGE *et al.*, 2016), 1,5 vezes maior que o diâmetro médio do suporte. Consequentemente, preferencial adsorção da LTL na superfície externa do suporte é esperada. Isso permite melhor acessibilidade de moléculas de materiais de partida como AGL e decanol aos sítios ativos da enzima. Estes resultados mostram

também uma drástica redução da atividade catalítica da enzima após a imobilização devido à possível restrição do acesso de gotas de óleo aos sítios ativos da enzima. A habilidade deste catalisador de catalisar reações de esterificação foi avaliada.

Tabela 3 - Propriedades de lipase de *Thermomyces lanuginosus* livre e imobilizada via adsorção física em SiO₂ de casca de arroz

Biocatalisador	Parâmetros		
	PI ^a (mg g ⁻¹)	AH ^b (U g ⁻¹)	AE ^c (U mg _{protein} ⁻¹)
LTL Solúvel	16,0	27.302,4	1.706,8
LTL-SiO ₂	26,8 ± 2,2	784,1 ± 49,9	29,2

A: Proteína Imobilizada; b: Atividade hidrolítica, c: Atividade específica

Fonte: Do autor.

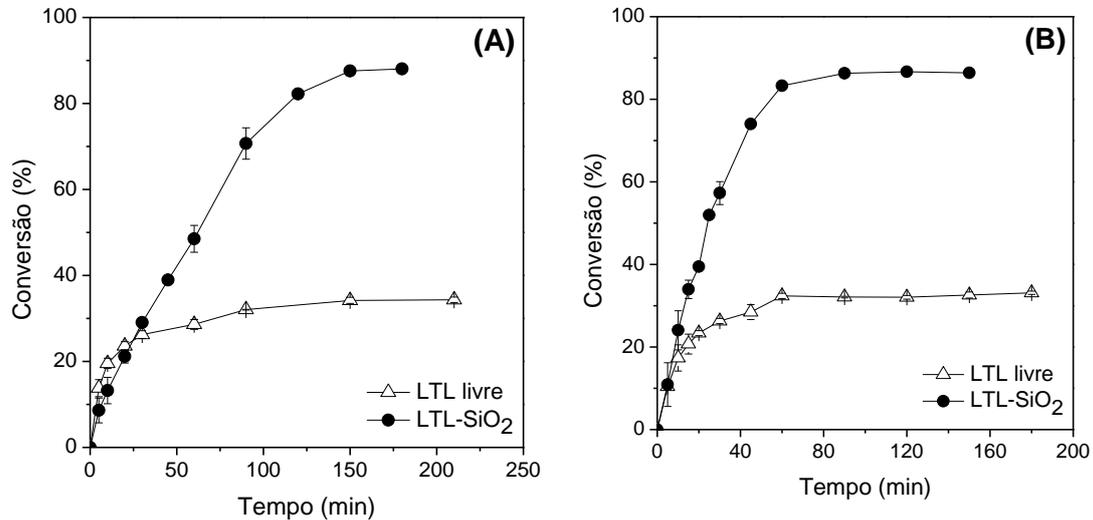
4.3.3 Esterificação enzimática para produção de ésteres decílicos em sistema livre de solventes

De modo a avaliar a atividade catalítica na produção de ésteres decílicos, LTL-SiO₂ foi empregada na reação de esterificação dos AGL obtidos na hidrólise enzimática do óleo de soja refinado e óleo de fritura. As reações foram conduzidas em modo batelada em meio isento de solventes orgânicos. Neste estudo, foi avaliado também a capacidade catalítica da enzima na sua forma livre (extrato enzimático bruto em meio aquoso) para mostrar claramente o efeito da imobilização na atividade da lipase em meio orgânico. Para efeito de comparação, estes testes foram conduzidos com a mesma concentração de proteína para ambos catalisadores (lipase livre e imobilizada) de 40 mg proteína no interior do reator. Na Figura 10, é apresentado o efeito do tempo de contato na conversão dos AGL obtidos do óleo de soja refinado – OSR (A) e de fritura – OF (B) catalisado por LTL livre e LTL-SiO₂.

Conforme pode ser observado, a esterificação empregando LTL na forma livre do AGL do óleo de soja refinado proporcionou uma conversão máxima de 38,6% no tempo de 210 min e o ensaio empregando a LTL imobilizada (LTL-SiO₂) apresentou uma conversão de 87,5% no tempo de 150 min. Na reação de esterificação do AGL do OF com catalisador livre apresenta uma conversão de 38%, com um tempo de contato menor (150 min). Entretanto, a reação

catalisada por LTL-SiO₂, máxima conversão de 86,3% foi obtida após 90 min na esterificação dos ácidos graxos livre do óleo de fritura.

Figura 10 - Efeito do tempo de reação esterificação do AGL do OSR (a) e OF (b) catalisado por LTL livre e LTL-SiO₂



* As reações foram conduzidas a 40 °C, 240 rpm, razão estequiométrica de AGL:decanol e concentração de proteína de 5 mg g⁻¹.

Fonte: Do autor.

Neste estudo, foi avaliada a influência da matéria-prima (fonte de AGL) na produção de ésteres decílicos catalisada pela lipase livre e imobilizada. A aplicação do OF para a obtenção de ésteres decílicos é de grande relevância dos pontos de vista econômico e ambiental (CARVALHO *et al.*, 2021; GUEDES JÚNIOR *et al.*, 2022). De acordo com os resultados obtidos, a aplicação de AGL de óleo de fritura reduziu o tempo necessário para alcançar máxima conversão em 40% em relação ao tempo para máxima conversão dos AGL do óleo de soja refinado, empregando os dois tipos de biocatalisadores testados neste estudo (lipase livre e imobilizada). Isto é decorrente do possível aumento de afinidade entre enzima e as cadeias de ácidos graxos após o tratamento térmico (processamento de alimentos). Nestes processos, podem ocorrer a redução do número de insaturações ou formação de novos compostos com menores massas moleculares que possuem maior afinidade com as moléculas de lipase. É também possível observar que a aplicação de lipase imobilizada foi 2 vezes mais ativa que a sua forma livre. Além de facilitar a recuperação e reuso do biocatalisador, o processo de imobilização aumentou a atividade catalítica do catalisador, sendo estes resultados bastante satisfatórios do ponto de vista técnico e industrial.

A baixa atividade da enzima livre pode ser decorrente da formação de agregados de lipases quando se emprega enzima na forma livre que restringe o acesso de moléculas de

materiais de partida aos seus sítios ativos (LAGE *et al.*, 2016). Nos ensaios realizados observou-se a formação de uma emulsão de coloração branca e aspecto viscoso (gel), provavelmente decorrente da interação entre enzima, água, óleo e produto final (ésteres decílicos) que dificulta a recuperação da enzima e separação do produto. Dessa forma, a imobilização evita a formação destes agregados e melhora a dispersão de moléculas de lipase na superfície do suporte. Além disso, a aplicação de suportes com elevada área superficial, como é o caso de partículas de SiO₂ obtidas neste estudo, é um requisito importante na preparação de biocatalisadores com elevada atividade catalítica.

4.3.4 Teste de estabilidade operacional do biocatalisador

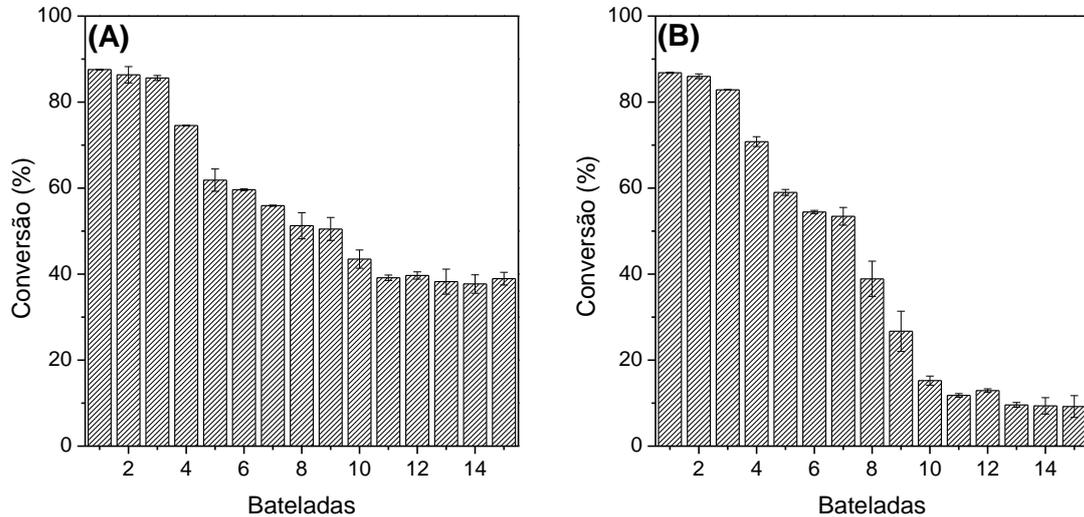
Após otimizar o tempo necessário para alcançar a máxima conversão empregando os dois sistemas reacionais (AGL de óleo de soja refinado e de fritura), foram realizados testes de estabilidade operacional (reuso do biocatalisador LTL-SiO₂) após 15 bateladas consecutivas de 90 e 150 min de reação para AGL do OF e OSR, respectivamente. As condições reacionais são as mesmas descritas no item “Metodologia”. Neste estudo, não foi conduzido teste de reuso com a lipase livre à sua difícil recuperação do meio reacional por estar na mesma fase dos materiais de partida (solução enzimática e materiais de partida encontram-se na fase líquida). Na Figura 11, estão apresentados os resultados obtidos após sucessivas bateladas de reação para as duas fontes de AGL.

O biocatalisador empregado no AGL do OSR apresenta uma estabilidade de conversão próxima a máxima nos três primeiros ciclos e posteriormente uma queda, com conversão acima de 50% até o 9º ciclo e da ordem de 40% até o 15º ciclo. De forma similar, o biocatalisador sólido preparado e aplicado no AGL do OF também manteve uma estabilidade nos três primeiros ciclos de reação. Entretanto, a partir do 4º ciclo foi detectada uma acentuada redução de atividade catalítica, com uma conversão acima de 50% até o 7º ciclo. A partir do 10º ciclo, a conversão foi da ordem de 10% com relação à sua atividade original.

Conforme pode ser observado na Figura 11, a lipase imobilizada reteve 40% de sua atividade inicial após 15 ciclos de reação enquanto que o biocatalisador heterogêneo preparado reteve apenas 10% empregando AGL do óleo de fritura. No testes de reuso do biocatalisador a estabilidade é maior quando empregado AGL de OSR se comparado com os de OF. Estes resultados sugerem que compostos obtidos no processamento térmico do óleo de soja pode ter

formado compostos de menor massa molecular que interagiu com a superfície do suporte e promoveu a dessorção de moléculas de enzima.

Figura 11 - Testes de reuso em sistemas de bateladas consecutivas de reação de esterificação de AGL de OSR em 150 min de reação (A) e OF em 90 min de reação (B) com decanol em meios isentos de solventes catalisada por LTL-SiO₂



As reações foram conduzidas a 40 °C, 240 rpm, razão estequiométrica de AGL:decanol e concentração de proteína de 5 mg g⁻¹.

Fonte: Do autor.

4.3.5 Análise térmica dos ésteres decílicos produzidos

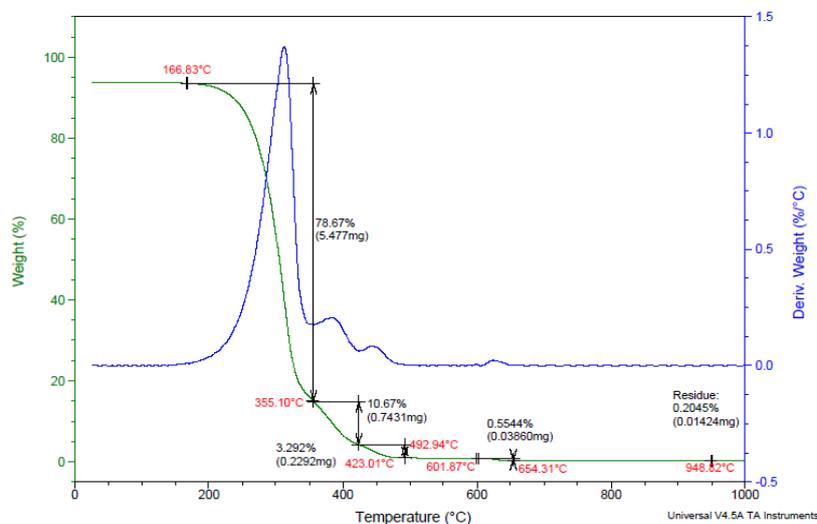
O estudo da estabilidade térmica dos ésteres produzidos a partir do OSR e OF foi realizada por meio de análises ATG com atmosfera oxidante. Como apresentado na Figura 12, os ésteres produzidos possuem 3 estágios de perda de massa entre 18 °C e 1000°C. De acordo com a Figura 12(A), os ésteres decílicos provenientes do OSR foram altamente estáveis termicamente na faixa entre 18°C e 200°C. Nessa faixa de temperatura, pode ser observado uma perda de massa de apenas 3,6% para os ésteres obtidos de OF atribuído à possíveis moléculas de água presentes na composição (Figura 12(B)). Esta alta estabilidade térmica dos ésteres decílicos também pode ser observado na análise de DTG (curva azul). É possível observar uma intensa perda de massa de 78,7% e 82,7% para os ésteres do OSR e OSF, respectivamente, para temperaturas entre 200°C e 350°C devido à degradação das ligações ésteres e duplas ligações existentes na estrutura química de ácidos graxos mono (oleico) e poli-insaturados (linoleico e linolênico). A perda de massa após 350°C sugere uma completa degradação térmica resultante da oxidação dos fragmentos gerados em etapas anteriores. Esses resultados mostram que os ésteres decílicos possuem alta estabilidade em uma faixa de temperatura abaixo de 200°C. Essa elevada

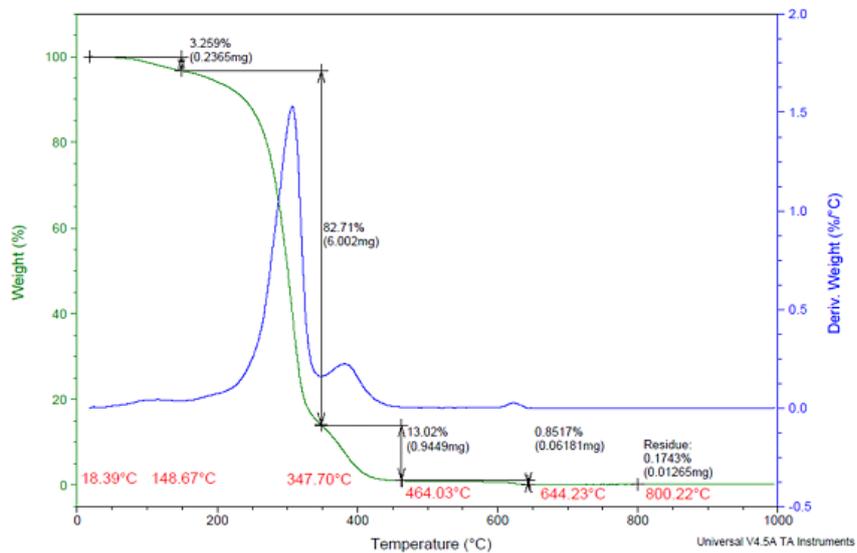
resistência térmica é bastante atrativa para a aplicação destes ésteres com o bioplastificantes na produção de filmes de PVC para diferentes aplicações.

Neste estudo também foram realizadas análises de DSC a fim de determinar os pontos de cristalização e de fusão dos ésteres produzidos. As curvas de DSC dos ésteres decílicos obtidos de OSR (A2) e do OF (B2) são apresentados na Figura 12. De acordo com os resultados obtidos, ambos os ésteres produzidos exibiram pontos de cristalização e de fusão bastante similares. Esses resultados mostram que o processo de fritura não exerceu forte influência na cristalização e temperatura de fusão dos ésteres produzidos. É possível observar também que esses ésteres apresentam dois picos endotérmicos e dois exotérmicos devido à ampla composição em ácidos graxos – saturados como ácidos graxos palmítico e esteárico (14% m m⁻¹) e insaturados (mono ou poli-insaturados) como oleico, linolênico e linoleico (86% m m⁻¹).

Os termogramas também apresentam dois picos durante o processo de resfriamento (cristalização) perto de 8°C e -35°C devido à presença de ácidos graxos insaturados e saturados na composição de ambos os ésteres produzidos. Por outro lado, dois picos próximos a -15°C, decorrente da presença de ácidos graxos insaturados, e 17°C, ácidos graxos saturados, foram observados no processo de aquecimento (fusão). A influência da composição dos ácidos graxos na temperatura de cristalização e de fusão de ésteres obtidos de óleos vegetais ou microbianas foram também reportados em estudos anteriores (FERNANDES, *et al.* 2018; PAPADAKI, *et al.*, 2018). Estes resultados sugerem que a presença destes diferentes perfis de ácidos graxos existentes na composição destes ésteres pode influenciar fortemente as propriedades físicas dos filmes obtidos, incluindo a temperatura de transição vítrea.

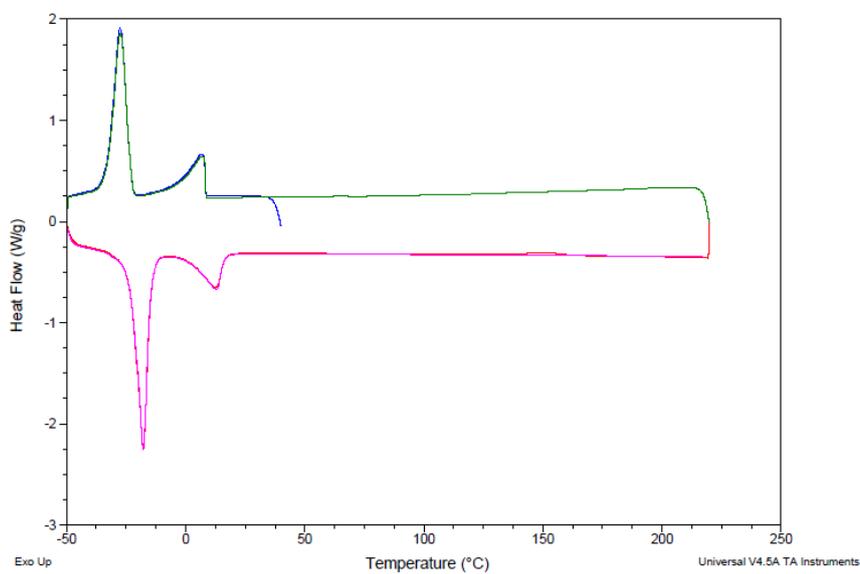
Figura 12 - Análise de termogravimetria para os ésteres decílicos obtidos de OSR (A) e OF (B), respectivamente (A1)



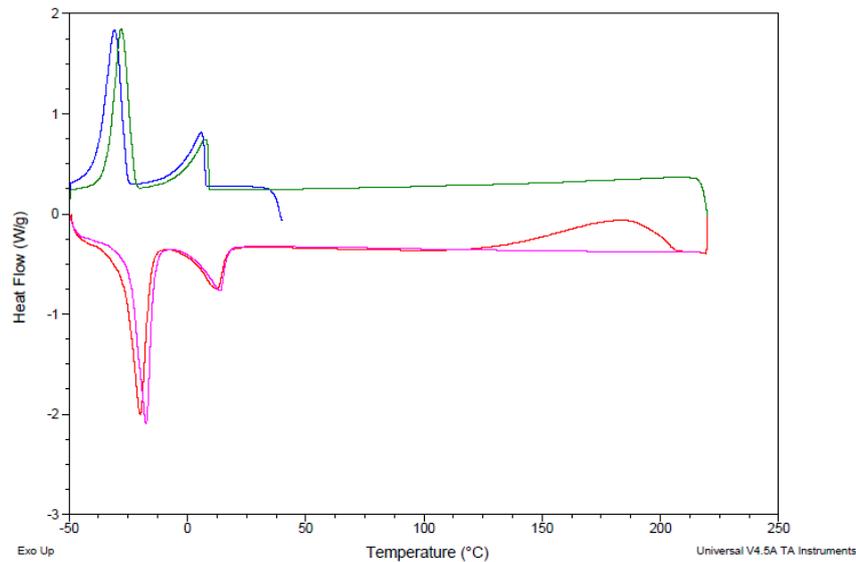
(B1)

Fonte: Do autor.

Figura 12 - Análise de termogravimetria para os ésteres decílicos obtidos de OSR (A) e OF (B), respectivamente **(A2)**



(B2)



Fonte: Do autor.

4.4 CONCLUSÃO

Este estudo mostrou que a aplicação de SiO₂ de casca de arroz, um material renovável e de baixo custo obtido de resíduos agroindustriais obtidos facilmente no país, pode ser uma alternativa promissora dos pontos de vista técnico e ambiental para a preparação de biocatalisadores para a produção de ésteres de interesse industrial. O suporte de baixo custo possui capacidade satisfatória na adsorção de lipase, um requisito importante para a preparação de biocatalisadores ativos em biotransformação de óleos e gorduras. Além disso, o biocatalisador preparado desempenhou desempenho catalítico na esterificação de AGL oriundos do OF bastante similar aos de OSR. Estes resultados mostram que a aplicação de AGL oriundos do óleo de fritura, uma matéria-prima de baixo custo e de fácil obtenção que gera grandes problemas ao meio ambiente, é mais interessante na produção de ésteres para posterior aplicação como bioplastificantes, alvo de interesse do presente trabalho, pois sua aplicação não compete com o óleo de soja não processado que possui aplicação na indústria de alimentos.

REFERENCIAS

- AJITHKUMAR, G.; JAYADAS, N.H.; BHASI, M. Analysis of the pour point of coconut oil as a lubricant base stock using differential scanning calorimetry. **Lubrication Science**, v. 21, p. 13-26, 2009.
- ALVES, Michelle D. *et al.* Isotherm, kinetic, mechanism and thermodynamic studies of adsorption of a microbial lipase on a mesoporous and hydrophobic resin. **Chemical Engineering Journal**, v. 311, p. 1-12, Mar. 2017.
- BARBOSA, Milson S. *et al.* Optimization of the enzymatic hydrolysis of *Moringa oleifera* Lam oil using molecular docking analysis for fatty acid specificity. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 66, p. 823–832, June. 2019.
- BRADFORD, Marion M. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, Mar 1976.
- BRESSANI, Ana P. P. *et al.* Production of alkyl esters from macaw palm oil by a sequential hydrolysis/esterification process using heterogeneous biocatalysts: Optimization by response surface methodology. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 38, n. 2, p. 287-297, Feb. 2015.
- CAVALCANTI, Elisa D.C. *et al.* Improved production of biolubricants from soybean oil and different polyols via esterification reaction catalyzed by immobilized lipase from *Candida rugosa*. **Fuel**, v. 215, p. 705–713, Mar. 2018.
- CORRADINI, Felipe A.S. *et al.* Kinetic study of soybean oil hydrolysis catalyzed by lipase from solid castor bean seeds. **Chemical Engineering Research Design**, v. 144, p. 115–122, Apr. 2019.
- FERNANDES, Keysson V. *et al.* Enzymatic esterification of palm fatty-acid distillate for the production of polyol esters with biolubricant properties. **Industrial Crops and Products**, v. 116, p. 90-96, June 2018.
- FERNANDEZ-LAFUENTE, Roberto. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 62, p. 197–212, Mar. 2010.
- FREITAS, Larissa. *et al.* Enzymatic hydrolysis of soybean oil using lipase from different sources to yield concentrated of polyunsaturated fatty acids. **World Journal Microbiology Biotechnology**, v. 23, p.1725–1731, May 2007.
- FUENTES, Manuel. *Et al.* Mixed Ion Exchange Supports as Useful Ion Exchangers for Protein Purification: Purification of Penicillin G acylase from *Escherichia coli*. **Biomolecules**, v. 8, p. 703-707, Jan. 2007.

- GAMA, Rafaela S. *et al.* A novel functionalized SiO₂-based support prepared from biomass waste for lipase adsorption. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, p. 146–150, Aug. 2019.
- LAGE, Flávia A. P. *et al.* Preparation of a biocatalyst via physical adsorption of lipase from *Thermomyces lanuginosus* on hydrophobic support to catalyze biolubricant synthesis by esterification reaction in a solvent-free system. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 84, p. 56–67, Mar. 2016.
- MACHADO, Natália B. *et al.* Preparation, functionalization and characterization of rice husk silica for lipase immobilization via adsorption. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 128, p. 9–21, Sept. 2019.
- MANSIR Nasar. *et al.* Modified waste egg shell derived bifunctional catalyst for biodiesel production from high FFA waste cooking oil. A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 3645-3655, Feb. 2018.
- MIGUEZ, João. P. *et al.* Enzymatic synthesis optimization of a cosmetic ester catalyzed by a homemade biocatalyst prepared via physical adsorption of lipase on amino-functionalized rice husk silica. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 139, p. 296–308, Nov. 2018.
- MIRANDA, Jéssica S. *et al.* Immobilization of *Thermomyces lanuginosus* lipase on mesoporous poly-hydroxybutyrate particles and application in alkyl esters synthesis: Isotherm, thermodynamic and mass transfer studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 251, p. 392–403, Sept. 2014.
- MCCLEMENTS, D.J.; WEISS, J. **Bailey's industrial oil and fat products**. Shahidi, F. Lipid Emulsions. John Wiley & Sons Inc, Nova York. 6 ed. p. 457–502, 2005.
- MOREIRA, Denise R. *et al.* Moringa polyesters as eco-friendly lubricants and its blends with naphthalenic lubricant. **Industrial Crops and Products**, v. 158, 112937, Dec. 2020.
- PAPADAKI, Aikaterini, *et al.* Bioprocess development for biolubricant production using microbial oil derived via fermentation from confectionery industry wastes. **Bioresource Technology**, v.267, p. 311–318, Nov. 2018.
- PINEDA-VASQUEZ, Tatiana G. *et al.* Biogeneration of Silica Nanoparticles from Rice Husk Ash Using *Fusarium oxysporum* in Two Different Growth Media. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 53, p. 6959-6965, Apr. 2014.
- POURZOLFAGHAR, Hamed *et al.* A review of the enzymatic hydroesterification process for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 61, p. 245-257, Aug. 2016.
- ROONEY, D.; WEATHERLEY, L.R. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid-liquid reactor. **Process Biochemistry**, v. 36, p. 947–953, Apr. 2001.

SANTOS, Kádima C. *et al.* Characterization of the catalytic properties of lipases from plant seeds for the production of concentrated fatty acids from different vegetable oils. **Industrial Crops and Products**, v. 49, Aug. 2013.

SETIAWAN, Wahyu K.; CHIANG kung-Yuh. Eco-friendly rice husk pre-treatment for preparing biogenic silica: Gluconic acid and citric acid comparative study. **Chemosphere**, v. 279, 130541, Sept. 2021.

WOLAK, W. *et al.* Enhancing silica surface deprotonation by using magnetic nanoparticles as heating agents. **Journal of Physics D: Applied Physics**, v. 52, 465001, 2019.

ZAINAL, N. A. *et al.* A review on the chemistry , production , and technological potential of bio- based lubricants. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 82, p. 80–102, Feb.2018.

5 ARTIGO II- MODIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS POR DIFERENTES ESTRATÉGIAS E APLICAÇÃO COMO BIOPLASTIFICANTES: PREPARAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES DE POLI (CLORETO DE VINILA)

RESUMO

Neste estudo, foram preparados diferentes materiais com propriedades plastificantes foram produzidos via epoxidação *in situ* de óleos de soja refinado (OSR) e de fritura (OF) e seus derivados (ésteres decílicos) como matérias-primas. O processo proposto baseia-se na formação de perácido no meio de reação empregando H_2O_2 e ácido fórmico que reage com as insaturações presentes nas cadeias carbônicas dos ácidos graxos com posterior formação do anel oxirano (epóxi). Neste estudo, diferentes metodologias descritas na literatura especializadas foram empregadas para a avaliação do processo de epoxidação. Por fim, os materiais epoxidados foram empregados como potenciais plastificantes na formação de filmes de poli (cloreto de vinila) via evaporação de solvente – tetrahydrofurano (processo *casting*). De acordo com os resultados obtidos, máxima conversão (determinada por redução do índice de iodo – II) da ordem de 42% foi observada para os ésteres decílicos, seguido do óleo de soja processado (fritura) – OF ($36,4 \pm 0,2\%$) e refinado ($32,5 \pm 3,1\%$). A máxima porcentagem de grupos epóxi introduzidos ($IE_{exp.}$) foi de apenas 2% para todas as amostras testadas, relativamente inferior aos valores teóricos para óleos vegetais (7,5%) e ésteres decílicos (5,2%). Por outro lado, a seletividade do processo de epoxidação foi da ordem de 85%, com exceção do bioplastificante obtido da epoxidação do óleo de fritura (71%) devido à possível presença de compostos gerados no processamento térmico do óleo de soja. Os filmes de PVC foram preparados e aqueles obtidos com óleos vegetais epoxidados apresentaram aparentemente maior flexibilidade e transparência. Diferentes técnicas ainda serão empregadas para a caracterização das propriedades físico-químicas destes filmes.

5.1 INTRODUÇÃO

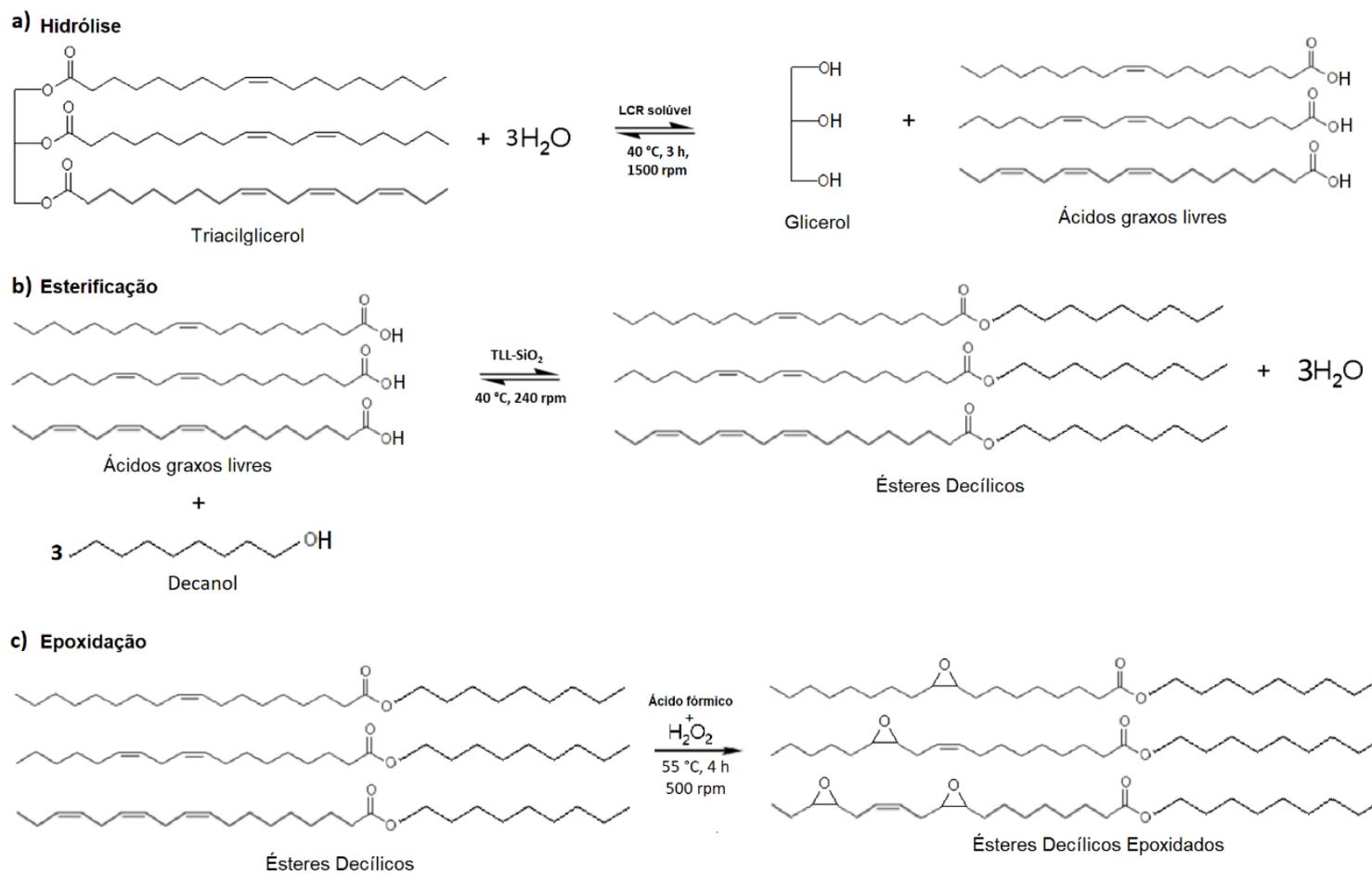
Nos últimos anos, os polímeros têm sido amplamente empregados na produção de embalagens para diferentes finalidades devido à fácil processabilidade, disponibilidade e baixo custo (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021). Dentre os diferentes polímeros disponíveis no mercado, o poli (cloreto de vinila) (PVC) é um dos mais empregados

termoplásticos em embalagens de produtos das áreas de saúde e alimentos. Em 2020, a produção mundial de termoplásticos foi de 400 milhões de toneladas e a produção de PVC foi de aproximadamente 10% deste montante (40,34 milhões de toneladas), ficando atrás apenas de poli(propileno) (PP) e poli(etileno) de baixa (PEBD) e alta (PEAD) densidade (STATISTA, 2021). Embora o PVC tenha excelentes propriedades mecânicas e térmicas, a adição de aditivos como plastificantes desempenha um papel importante para melhorar sua processabilidade para a obtenção de filmes flexíveis. Dentre os plastificantes, os ésteres de ácido ftálico têm sido os mais empregados, conforme anteriormente reportado no Capítulo 1. Estes ésteres oriundos de fontes fósseis conferem flexibilidade aos produtos de PVC (CHANG *et al.*, 2021; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022). Entretanto, eles são tóxicos para o meio ambiente e para os seres humanos (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022).

Nos últimos anos, esforços para a busca de plastificantes eficientes e de origem renováveis alternativos aos plastificantes tóxicos existentes oriundos de fontes fósseis como ésteres ftálicos vêm ganhando cada vez mais relevância na indústria e na academia. Neste sentido, os óleos vegetais têm sido considerados os materiais com maior potencialidade para substituir os plastificantes convencionais (ALHANISH; GHALIA, 2021; CHANG *et al.*, 2021). Entretanto, estes óleos requerem etapas de modificação química para melhorar as suas propriedades como bioplastificantes. As principais modificações propostas são esterificação de ácidos graxos livres, transesterificação, hidroesterificação e epoxidação de ésteres – óleos vegetais e ésteres de monoalquílicos (ALHANISH; GHALIA, 2021).

Neste Capítulo, a partir do processo descrito no capítulo 2 é reportada a epoxidação *in situ* de óleos de soja refinado e de fritura e ésteres decílicos e sua aplicação na produção de filmes de PVC. No caso específico dos ésteres decílicos, eles foram obtidos por um processo consistindo de três etapas sequenciais: (i) hidrólise enzimática de óleos de soja refinado e fritura catalisada por lipase de *Candida rugosa* (LCR), (ii) esterificação dos ácidos graxos obtidos com decanol em meio isento de solvente catalisada por lipase de *Thermomyces lanuginosus* (LTL) imobilizada em partículas de SiO₂ obtidas da casca de arroz, e (iii) epoxidação *in situ* dos ésteres decílicos obtidos em sistema homogêneo em meio de ácido fórmico. O esquema representativo deste processo está sumarizado na Figura 13.

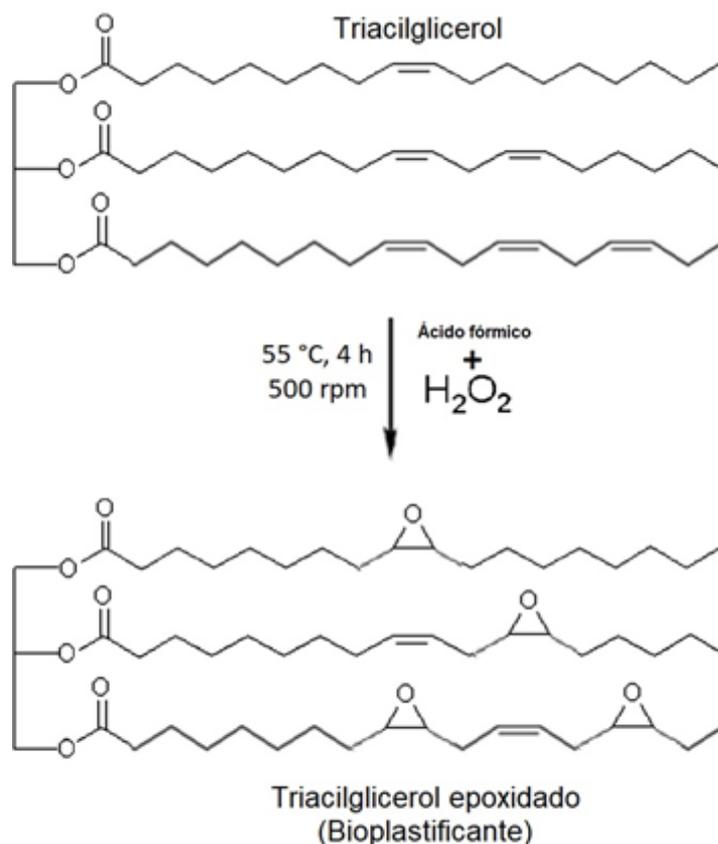
Figura 13 - Esquema representativo de produção de ésteres decílicos via hidroesterificação do óleo de soja refinado e óleo de fritura e epoxidação *in situ* empregando ácido fórmico



Fonte: Do autor.

O desempenho destes ésteres epoxidados foi comparado com os ésteres obtidos nas duas primeiras etapas na aplicação de plastificantes para filmes de PVC. Com relação as duas diferentes fontes de triacilgliceróis (OSR e OF) empregados neste estudo, o esquema representativo de epoxidação *in situ* é mostrado na Figura 14. Diferentes técnicas de análise foram empregadas para determinar a conversão das insaturações existentes na estrutura dos ácidos graxos em grupos epóxi e as propriedades físicas dos filmes de PVC obtidos.

Figura 14 - Esquema representativo de epoxidação *in situ* de óleo de soja refinado e óleo de fritura empregando ácido fórmico



Fonte: Do autor.

O processo de epoxidação foi conduzido empregando ácido fórmico, um ácido orgânico obtido da conversão catalítica de hexoses, em especial glicose, provenientes de materiais lignocelulósicos (KHEMTHONG *et al.*, 2021), um dos mais utilizados na literatura para a epoxidação de óleos vegetais e seus derivados (WANG *et al.*, 2018; BAI *et al.*, 2020). Em grande parte dos trabalhos reportados na literatura, a epoxidação de óleos vegetais e seus

derivados como monoésteres de alquila, em especial ésteres metílicos (biodiesel), e ácidos graxos ocorre na presença de perácidos de cadeia curta como ácido peracético e ácido perfórmico (SUZUKI *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2018; AGUILERA *et al.*, 2019; FANG *et al.*, 2019; BAI *et al.*, 2020; OLIVIERI *et al.*, 2020; JADHAV *et al.*, 2021). Estes perácidos são gerados *in situ* pela reação de um ácido carboxílico com peróxido de hidrogênio empregando diferentes catalisadores ácidos e enzimáticos (lipases) – homogêneos ou heterogêneos (BHALERAO *et al.*, 2018; SUZUKI *et al.*, 2018; WANG *et al.*, 2018; AGUILERA *et al.*, 2019; BAI *et al.*, 2020; JADHAV *et al.*, 2021; AGUILERA *et al.*, 2022). Os catalisadores ácidos mais usados são geralmente ácidos homogêneos como H_2SO_4 , H_3PO_4 e HCl (WANG *et al.*, 2018; KURANSKA *et al.*, 2019; JADHAV *et al.*, 2021). Entretanto, o uso de ácidos inorgânicos como H_2SO_4 promove a abertura dos anéis oxirano (epóxi) introduzidos (WANG *et al.*, 2018; KURANSKA *et al.*, 2019; JADHAV *et al.*, 2021), o que pode comprometer as propriedades de filmes de PVC. Os filmes de PVC podem sofrer decomposição térmica, a qual promove a liberação de moléculas de HCl. Este processo resulta no escurecimento destes materiais. A presença de anéis oxirano presentes na estrutura química dos plastificantes oriundos de óleos vegetais e seus derivados (ácidos graxos) reage com este HCl gerado e restaura os átomos de cloro nas cadeias do polímero que preserva a cor original dos filmes (PARREIRA *et al.*, 2002). Por outro lado, a epoxidação com ácido fórmico não requer a adição de outros catalisadores ácidos porque a acidez relativamente alta deste composto pode autocatalisar a formação de perácidos e preserva a estrutura dos anéis epóxi introduzidos (WANG *et al.*, 2018).

A produção de plastificantes a partir da epoxidação *in situ* de ésteres decílicos ainda não é descrita na literatura especializada e a condução destes estudos pode ser altamente atrativa para a produção de novas classes de plastificantes oriundos de materiais renováveis facilmente encontrados no país como óleo de soja e de fritura.

5.2 MATERIAIS E MÉTODOS

5.2.1 Materiais

Lipases de *Thermomyces lanuginosus* (LTL) e de *Candida rugosa* do Tipo VII (LCR) foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Cascas de arroz foram adquiridas da empresa Arroz Rei Ouro Ltda. (Itajubá, MG, Brasil). PVC em pó de baixa massa molecular ($\approx 48000 \text{ g mol}^{-1}$), com massa específica de $1,4 \text{ g cm}^{-3}$, foi adquirido da Sigma-Aldrich. Decanol,

ftalato de dioctila (FDO) e trietóxi(octil)silano (OCTES) foram também adquiridos da Sigma-Aldrich. Óleo de soja refinado (OSR) de baixa acidez (Liza) foi adquirido em um mercado local (Alfenas, MG, Brasil). Óleo de fritura (OF) foi coletado depois de ser usado em um restaurante *fast-food* na cidade de Alfenas (MG, Brasil). Soluções de ácido fórmico (85% m.m⁻¹), peróxido de hidrogênio (50% v v⁻¹) e de Wijs (solução de Iodo-Cloro) foram adquiridos da Synth[®] (São Paulo, SP, Brasil). Todos os outros reagentes químicos e solventes orgânicos foram de grau analítico adquiridos da Synth[®] e Vetec Química Ltda (São Paulo, SP, Brasil).

5.2.2 Metodologia Experimental

5.2.2.1 Produção enzimática de ésteres decílicos via hidroesterificação

A produção de AGL por hidrólise enzimática completa dos óleos (OSR e OF) foi conduzida empregando 3,2 g L⁻¹ do extrato bruto de LCR, agitação mecânica de 1500 rpm, 40°C e tempo de reação de 3 h empregando razão mássica óleo:água de 40% (m m⁻¹) e 50% (m m⁻¹) para OF e OSR, respectivamente. Os AGL obtidos foram separados em funil de separação e a parte superior foi lavada 3 vezes com água destilada a 50°C para a remoção de glicerol residual e os AGL purificados foram empregados na síntese de ésteres de decila.

O biocatalisador heterogêneo preparado (LTL-SiO₂), conforme descrito no Capítulo 2, foi utilizado na produção dos ésteres decílicos e seu desempenho catalítico foi comparado com o biocatalisador preparado por sequencial produção de partículas de SiO₂ obtidas do tratamento termoquímico da casca de arroz e funcionalizado com trietóxi(octil)silano – OCTES (SABI *et al.*, 2022). A produção dos ésteres decílicos foi conduzida em modo batelada por esterificação direta dos AGL obtidos anteriormente e decanol, em meio livre de solvente. As reações foram conduzidas em frascos abertos contendo 6 g de meio reacional (AGL e decanol na razão molar de 1:1). A mistura reacional foi colocada em shaker rotativo (240 rpm) a 40°C e concentração enzimática de 40 mg de proteína imobilizada (1,5 g de LTL-SiO₂ e 1,8 g de LTL-Octil-SiO₂). Alíquotas do meio de reação foram retiradas em tempos pré-determinados e diluídas em etanol para a quantificação de ácido residual por titulação com solução de NaOH 30 mM.

5.2.2.2 Epoxidação “*in situ*” de óleos vegetais e ésteres decílicos

A epoxidação *in situ* dos óleos (OSR e OF) e ésteres decílicos foi realizada conforme metodologia adaptada de Wang *et al.* (2018). Inicialmente, 20 g das amostras foram introduzidas em frascos abertos (reatores) com capacidade de 250 mL contendo 10,4 g de água bidestilada. Em seguida, foram adicionados 4,32 g de solução de ácido fórmico (85% m m⁻¹) e 2,5 g de solução de H₂O₂ (50% v v⁻¹). Estes frascos foram imersos por 4 h em um banho com controle de temperatura (55°C) com volume de 10 L contendo água como fluido termostático acoplado a um sistema de agitação mecânica (500 rpm) equipado com um impelidor com 3 pás do tipo hélice de 3 cm de diâmetro. Ao final, as amostras foram separadas em funil de separação. A fase inferior (fase aquosa contendo solução de H₂O₂ e ácido fórmico residuais) foi descartada e a parte superior (fase orgânica contendo as amostras epoxidadas) foi lavada 5 vezes com água destilada (razão mássica de 1:1) a 70°C para a remoção de materiais residuais, desidratados com Na₂SO₄ anidro (20% m m⁻¹) por 24 h a 25°C sob condições estáticas e estocados em geladeira a 4°C.

5.2.2.3 Métodos analíticos

Neste estudo, todos os ensaios foram realizados em triplicata e os dados experimentais foram representados pela média ± desvio que foram calculados pelo *software* Origin versão 5.0 (OriginLab Corporation, Northampton, MA, EUA).

5.2.2.4 Determinação do índice de iodo (II)

O índice de iodo foi determinado de acordo com metodologia padrão proposta pela *American Society for Testing and Materials* – ASTM D5554-95 (ASTM, 2011), determinado como mostrado na Eq. (1):

$$II = \frac{(V_{\text{branco}} - V_{\text{amostra}}) \times 10^{-3} \times C \times MM_{I_2} \times 100}{2 \times m} \quad (1)$$

Em que: V_{branco} e V_{amostra} são os volumes de solução de tiosulfato de sódio gastos na titulação da solução controle e amostras (mL), respectivamente; C é a concentração molar da solução de tiosulfato de sódio (0,1 mol L⁻¹); MM_{I_2} é a massa molecular de iodo (253,8 g mol⁻¹); e m é a massa de amostra (0,25 g).

5.2.2.5 Determinação da porcentagem conversão (X)

A porcentagem de conversão das insaturações (X – %) foi calculada conforme mostrada abaixo (Eq. (2)) (SUZUKI *et al.*, 2018; THUY; LAN, 2021):

$$X = \left(\frac{II_0 - II}{II_0} \right) \times 100 \quad (2)$$

Em que: II_0 e II são os índices de iodo das amostras antes e após a epoxidação, respectivamente.

5.2.2.6 Determinação do índice de acidez (IA)

O índice de acidez (IA) foi determinado conforme metodologia adaptada de Oliveira *et al.* (2010). Em um frasco Erlenmeyer de 125 mL, foi adicionado 1 g de amostras e 12,5 mL de solução neutralizada de éter de petróleo e álcool etílico (relação volumétrica de 2:1). Em seguida, foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína e as amostras foram tituladas com solução padronizada de NaOH (0,04 mol L⁻¹). Ensaios controle foram realizados sem a adição das amostras. IA (%) foi expresso conforme mostrado na Eq. (3):

$$IA = \frac{(V_{amostra} - V_{branco}) \times 10^{-3} \times C_{NaOH} \times MM_{NaOH} \times 100}{m} \quad (3)$$

Em que: $V_{amostra}$ e V_{branco} são os volumes de solução de NaOH gastos na titulação da amostra e da solução controle (mL), respectivamente; C_{NaOH} é a concentração molar da solução de NaOH; MM_{NaOH} é a massa molecular de NaOH (40 g mol⁻¹); e m é a massa de amostra (1 g).

5.2.2.7 Determinação da porcentagem teórica de grupos epóxi introduzidos (IE_{teór.})

A porcentagem teórica de grupos introduzidos nas amostras (IE_{teór.}) foi calculada de acordo com a Eq. (4) (SUZUKI *et al.*, 2018; THUY; LAN, 2021):

$$IE_{\text{teór.}} = \left(\frac{\frac{\Pi_0 \times MM_0}{MM_{I_2}}}{100 + \frac{\Pi_0 \times MM_0}{MM_{I_2}}} \right) \times 100 \quad (4)$$

Em que: Π_0 é o índice de iodo das amostras antes da epoxidação; MM_O é a massa molecular de oxigênio (16 g mol⁻¹); e MM_{I_2} é a massa molecular de iodo (253,8 g mol⁻¹).

5.2.2.8 Determinação da porcentagem experimental de grupos epóxi introduzidos ($IE_{\text{exp.}}$)

A porcentagem de grupos introduzidos experimentalmente nas amostras ($IE_{\text{exp.}}$ – massa de oxigênio por 100 g de amostra ou %) foi determinada conforme metodologia descrita por HE et al. (2014), com algumas pequenas modificações. Em frascos Erlenmeyer de 125 mL, foram adicionadas uma massa de 0,5 g de cada amostra e 10 mL de uma solução de HCl em meio de acetona previamente preparada na relação volumétrica de 1:40. Estes frascos foram cobertos com papel filme para evitar evaporação do solvente e imersos em banho ultrassônico com frequência de 40 kHz por 5 min a 25°C para a hidrólise ácida dos anéis oxirano (epóxi) introduzidos. Após este período, foram adicionadas 3 gotas de fenolftaleína e as amostras foram tituladas com solução padronizada de NaOH (0,04 mol L⁻¹). Ensaios controle foram realizados sem a adição das amostras. $IE_{\text{exp.}}$ foi determinado como segue (Eq. (5)) (WANG *et al.*, 2018):

$$IE_{\text{exp.}} = \frac{\left[V_{\text{branco}} - \left(V_{\text{amostra}} - \frac{V_{IA}}{m_{IA}} \times m_a \right) \right] \times 10^{-3} \times C_{\text{NaOH}} \times MM_O \times 100}{m_a} \quad (5)$$

Em que: V_{branco} e V_{amostra} são os volumes de solução de NaOH consumidos na titulação das amostras e da solução controle (mL), respectivamente; V_{IA} é o volume de NaOH consumido na determinação do índice de acidez das amostras (mL); m_{IA} é a massa de amostra utilizada na determinação do índice de acidez das amostras (1 g); m_a é a massa de amostras utilizadas para este teste (0,5 g); C_{NaOH} é a concentração molar da solução de NaOH; e MM_O é a massa molecular de oxigênio (16 g mol⁻¹).

5.2.2.9 Determinação do rendimento (Y)

O rendimento do processo de oxidação (Y – %) foi calculado como mostrado abaixo (Eq. (6)) (SUZUKI *et al.*, 2018; THUY; LAN, 2021):

$$Y = \left(\frac{IE_{exp.}}{IE_{teór.}} \right) \times 100 \quad (6)$$

Em que: $IE_{exp.}$ e $IE_{teór.}$ são as concentrações de grupos experimentais e teóricos introduzidos nas amostras, respectivamente.

5.2.2.10 Determinação da Seletividade (S)

A seletividade (S – %) foi definida pela razão entre o número de grupos oxirano (epóxi) introduzidos e as insaturações consumidas no processo de epoxidação, determinada de acordo com a Eq. (7) (WANG *et al.*, 2018; THUY; LAN, 2021):

$$S = \left(\frac{Y}{X} \right) \times 100 \quad (7)$$

Em que: Y e X são os valores de rendimento e conversão determinados respectivamente.

5.2.2.11 Preparação dos filmes de PVC

Os filmes flexíveis de PVC foram preparados pela metodologia de moldagem com evaporação de solvente orgânico (método *casting*), conforme metodologia proposta por Patil e Jena, (2021). Inicialmente, 2,4 g de PVC em pó e 0,8 g dos diferentes plastificantes produzidos foram introduzidos em frascos fechados (frascos de Durán) com capacidade de 100 mL e adicionados 54 mL de tetrahidrofurano (THF) para a solubilização dos materiais. A solução foi mantida sob constante agitação magnética (500 rpm) a 25°C por 30 min. Em seguida, 6 mL da solução preparada foi colocada em placas de Petri com diâmetro de 9 cm em capela de exaustão. Os sistemas permaneceram por 48 h a 25°C em repouso para completa evaporação do solvente

e formação da rede polimérica. Após este período, os filmes preparados foram armazenados em embalagens de papel manteiga para posterior utilização. Neste estudo, foram empregadas como bioplastificantes as amostras epoxidadas de óleos de soja refinado (OSRE) e fritura (OFE). Com relação aos ésteres decílicos (ED) de OSR e OF, foram utilizadas amostras epoxidadas (EDOSRE e EDOFE) e não oxidadas (EDOSR e EDOF). Os filmes obtidos foram comparados com aqueles preparados com o plastificante comercial (ftalato de dioctila – FDO), preparados nas mesmas condições experimentais descritas acima, e na ausência de plastificantes. Estes filmes foram produzidos empregando uma massa inicial de PVC em pó de 3,2 g dissolvidos em 54 mL de THF, como descrito acima.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Seleção de biocatalisador para a produção de ésteres decílicos

Inicialmente, foi realizada a produção de ésteres decílicos via hidroesterificação dos óleos de soja refinado (OSR) e de fritura (OF). Na etapa de esterificação, foi empregado o biocatalisador preparado por adsorção física de LTL em partículas de SiO₂ obtidas do tratamento termoquímico da casca de arroz (LTL-SiO₂), conforme descrito no Capítulo 2. O seu desempenho catalítico foi comparado com um biocatalisador preparado via adsorção física por interações hidrofóbicas de LTL em partículas de SiO₂ previamente funcionalizadas com a introdução de grupos octil em sua estrutura (LTL-Octil-SiO₂). A preparação e aplicação deste biocatalisador na produção de ésteres decílicos foi conduzida por Rafaela Santos Gama em sua Dissertação de Mestrado defendida em fevereiro de 2021 no Programa de Pós-Graduação em Química da UNIFAL-MG. Estes resultados foram recentemente publicados em periódico indexado (SABI *et al.*, 2022).

Estes dois biocatalisadores foram preparados nas mesmas condições experimentais conforme descritos no Capítulo 2 (ver Materiais e Métodos, Seção 2.2.5) - tampão acetato de sódio pH 5,0 em baixa força iônica (5 mmol L⁻¹) a 25°C e 18 h de contato com constante agitação mecânica (200 rpm) empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg g⁻¹ de suporte. De acordo com os resultados obtidos, o suporte preparado (SiO₂) neste estudo obteve uma máxima concentração de LTL imobilizada da ordem de 27 mg g⁻¹, enquanto o suporte funcionalizado com grupos octil (Octil-SiO₂) obteve máxima concentração de proteína imobilizada de apenas 22 mg g⁻¹. Estes resultados podem ser devido à redução da área

superficial e restrição de moléculas de lipase ao seu microambiente interno após a introdução de grupos octil na sua superfície. Com relação à atividade específica na hidrólise da emulsão de azeite de oliva, ambos os biocatalisadores apresentaram resultados bastante similares (da ordem de $29 \text{ U mg}_{\text{PI}}^{-1}$).

As reações de esterificação catalisadas pelos dois diferentes biocatalisadores preparados (LTL-SiO₂ e LTL-Octil-SiO₂) foram conduzidas com a mesma massa de proteína imobilizada – 40 mg g^{-1} de biocatalisador (que corresponde a 1,5 g de LTL-SiO₂ e 1,8 g de LTL-Octil-SiO₂). De acordo com os resultados obtidos, máxima conversão dos AGL entre 86 e 87,3% foi obtida empregando os dois biocatalisadores. Os tempos de reação necessários para alcançar máxima conversão foram de 90%, com exceção de ésteres decílicos de óleo de soja refinado (OSR) catalisada por LTL-SiO₂ que necessitou de 150 min de contato nas mesmas condições experimentais. Por outro lado, os biocatalisadores apresentaram perfis distintos em testes de reuso (estabilidade operacional) após 15 bateladas sucessivas de reação. LTL-Octil-SiO₂ reteve aproximadamente 90% de sua atividade inicial após as 15 bateladas sequenciais de esterificação, enquanto LTL-SiO₂ reteve apenas 10% e 55% da atividade original empregando AGL de OF e OSR, respectivamente.

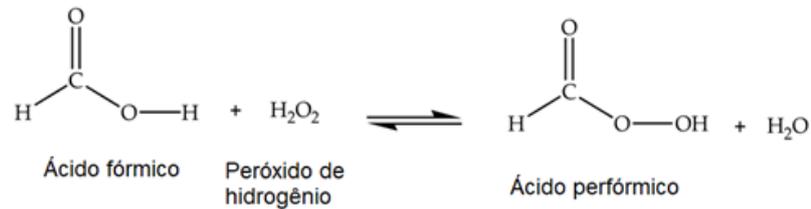
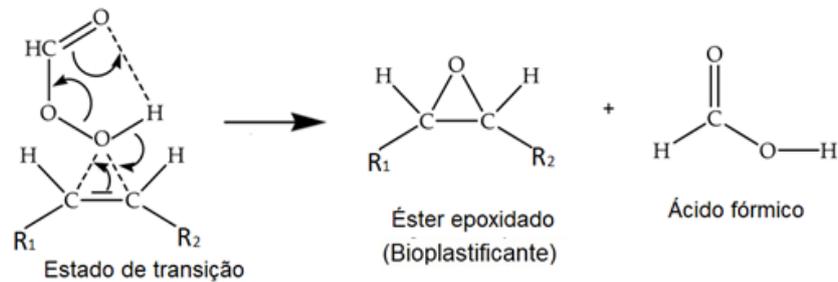
Estes resultados mostram que a funcionalização do suporte com grupos octil foi uma etapa crucial na preparação de biocatalisadores com alta atividade catalítica e retenção de sua atividade após sucessivas bateladas. Isto poderia ser devido à forte interação da enzima com a superfície do suporte (ativação interfacial de lipases em interfaces hidrofóbicas) e redução da hidrofiliabilidade no microambiente do biocatalisador que reduz a adsorção de moléculas de água geradas na reação que podem acelerar a inativação e/ou dessorção da enzima. Embora o biocatalisador preparado neste estudo tenha desempenhado similar atividade catalítica em reações de esterificação de ésteres decílicos, principalmente oriundos do óleo de fritura, LTL-Octil-SiO₂ foi selecionado como biocatalisador para a produção de ésteres decílicos para subsequentes estudos (epoxidação e preparação de filmes de PVC). É importante salientar que este estudo comparativo foi recentemente publicado (SABI *et al.*, 2022) e parte destes dados podem ser observados no Capítulo 2 da presente Dissertação. Por esta razão, estes dados não foram inseridos neste tópico.

5.3.2 Epoxidação *in situ* de óleos vegetais e ésteres decílicos

A transferência de massa na interface água/óleo tem sido considerada a etapa limitante reações de epoxidação de óleos vegetais e seus derivados – ácidos graxos livres e ésteres (AGUILERA *et al.*, 2019; BAI *et al.*, 2020). Estudos assumem que o processo de epoxidação ocorre em duas etapas principais (WANG *et al.*, 2018; AGUILERA *et al.*, 2019; BAI *et al.*, 2020; JADHAV *et al.*, 2021). A primeira etapa consiste na formação do perácido em meio aquoso por reação do ácido fórmico com H_2O_2 , seguido de transferência de massa por difusão nas películas estagnadas (fases aquosa e oleosa) formadas na interface água/óleo. Na segunda etapa, ocorre a difusão do perácido em meio orgânico (fase oleosa) para a formação de um intermediário (estado de transição) e, em seguida, o anel oxirano por reação com as insaturações (duplas ligações) e regeneração do ácido fórmico (BAI *et al.*, 2020; OLIVIERI *et al.*, 2020; JADHAV *et al.*, 2021). Na Figura 15 é mostrada de forma simplificada as duas principais etapas envolvidas na epoxidação *in situ* de óleos vegetais e ésteres. Conseqüentemente, uma intensa agitação é necessária para aumentar a área de contato entre as fases aquosa e orgânica.

Neste estudo, os testes de epoxidação foram conduzidos com intensa agitação mecânica (velocidade de agitação de 500 rpm) para melhorar a área interfacial e, conseqüentemente, o processo de epoxidação. As condições experimentais adotadas para a realização deste estudo como agitação mecânica e razão ésteres/ H_2O_2 /ácido fórmico foram aquelas previamente otimizadas em um estudo anterior realizado por Wang *et al.* (2018) para a epoxidação de ésteres metílicos de óleos de soja refinado e de fritura.

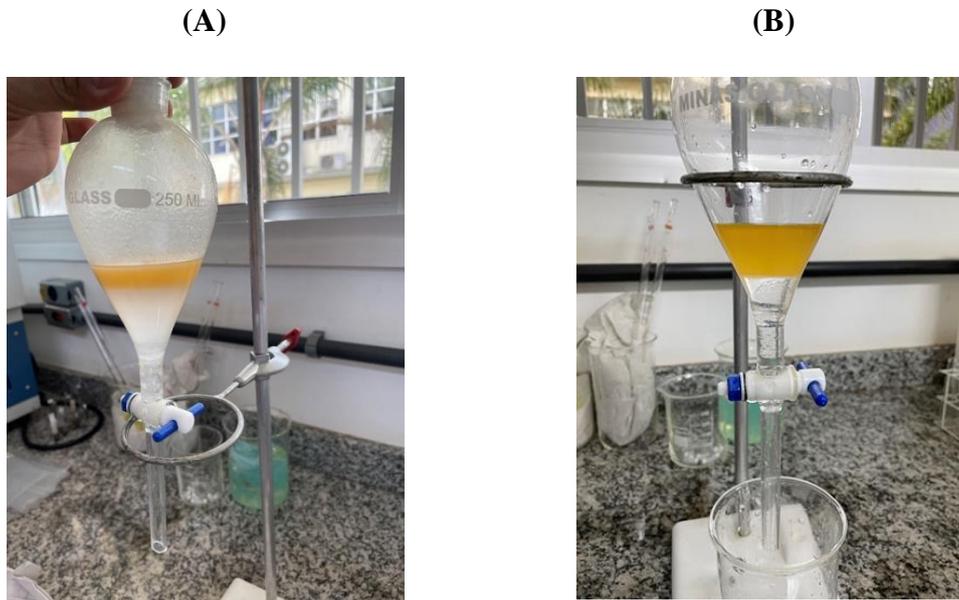
Figura 15 - Mecanismo de epoxidação de óleos vegetais e ésteres decílicos

a) Formação de perácido**b) Reação de epoxidação**

Fonte: Do autor.

Nestas condições, foi possível observar fácil separação das fases e recuperação das amostras após as etapas sucessivas de lavagem com água destilada a 70°C até a neutralidade (acompanhado com fita medidora de pH) em funil de separação, principalmente para aquelas amostras obtidas da epoxidação de ésteres decílicos. Na Figura 16, estão mostrados os processos de separação das amostras epoxidadas preparadas com óleo de soja refinado (A) e ésteres decílicos obtidos na hidroesterificação do óleo de soja refinado (B). Conforme pode ser observado, a separação das fases foi mais efetiva para os ésteres decílicos epoxidados devido a um possível maior número de grupos oxirano introduzidos na molécula do triacilglicerol que podem ter sofrido abertura (formação de grupos hidroxila) nas condições de ensaio. Esta abertura de alguns anéis oxirano pode aumentar a hidrofiliabilidade do material, consequentemente aumentando a interação com moléculas de água e maior perda de material. Isso pode ser observado pela maior turbidez observada na fase aquosa obtida no processo de lavagem do óleo vegetal epoxidado. Similar resultados foram obtidos para os materiais epoxidados empregando óleo de fritura (OF) e seus derivados (EDOFE) – dados não mostrados.

Figura 16 - Ilustração do processo de lavagem e separação das amostras epoxidadas obtidas com óleo de soja refinado (A) e ésteres decílicos proveniente do óleo de soja refinado (B)



Fonte: Do autor.

5.3.3 Influência da epoxidação *in situ* nas propriedades químicas de óleos vegetais e ésteres decílicos

As amostras de óleos vegetais e ésteres decílicos antes e após o processo de epoxidação *in situ* com ácido fórmico foram caracterizadas e as suas propriedades químicas estão sumarizadas na Tabela 4. Os índices de iodo (II) dos dois óleos testados foram bastante similares, $124,4 \pm 7,5$ e $128,5 \pm 6,5$ g_{I2} por 100 g de amostra para OSR e OF, respectivamente. Estes resultados mostram que o processamento térmico do óleo de soja não afetou fortemente a concentração de insaturações na estrutura do óleo. Os valores obtidos são próximos àqueles encontrados na literatura (CAI *et al.*, 2020; HUANG *et al.*, 2021; JIN *et al.*, 2021). Com relação aos ésteres decílicos, os valores de II também foram bastante similares (entre 87,7 e 88,8 g_{I2} por 100 g de amostra), entretanto inferiores aos óleos vegetais devido à redução da massa molecular e introdução de cadeia alquílica linear com 10 átomos de carbono obtidas no processo de hidroesterificação (ver Figura 15). Após a etapa de epoxidação, uma redução do número de insaturações de todas as amostras testadas foi observada. De acordo com os valores determinados de porcentagem de conversão (X) reportados na Tabela 4, máxima conversão da ordem de 42% foi observada para os ésteres decílicos, seguido do óleo de soja processado (fritura) – OF ($36,4 \pm 0,2\%$) e refinado ($32,5 \pm 3,1\%$).

Tabela 4 - Caracterização química dos óleos vegetais e ésteres decílicos antes e após o processo de epoxidação *in situ*

Amostra	II^a (g_{I2} por 100g)	X^b (%)	IA^c (%)	IE^{teór.} d (%)	IE^{exp.} e (%)	Y^f (%)	S^g (%)
OSR ¹	124,4 ± 7,5	-	0,031 ± 0,001	-	-	-	-
OSRE ²	86,5 ± 0,3	32,5 ± 3,1	0,035 ± 0,004	7,5 ± 0,1	1,9 ± 0,1	25,6 ± 0,0	84,0 ± 3,6
OF ³	128,5 ± 6,5	-	0,060 ± 0,004	-	-	-	-
OFE ⁴	81,8 ± 0,4	36,4 ± 0,2	0,066 ± 0,002	7,5 ± 0,0	1,9 ± 0,2	25,5 ± 0,1	70,1 ± 0,1
EDOSR ⁵	88,8 ± 0,3	-	0,151 ± 0,006	-	-	-	-
EDOSRE ⁶	51,1 ± 0,2	42,5 ± 0,1	0,120 ± 0,001	5,3 ± 0,0	1,9 ± 0,0	36,1 ± 0,0	84,9 ± 0,1
DOF ⁷	87,7 ± 0,5	-	0,244 ± 0,002	-	-	-	-
EDOFE ⁸	50,7 ± 1,9	42,1 ± 1,0	0,253 ± 0,005	5,2 ± 0,0	1,8 ± 0,2	35,4 ± 0,1	84,0 ± 0,7

Fonte: Do autor.

a – índice de iodo; b – conversão; e – índice de acidez; d – índice de epoxidação teórico; e – índice de epoxidação experimental; f – rendimento; g – seletividade.

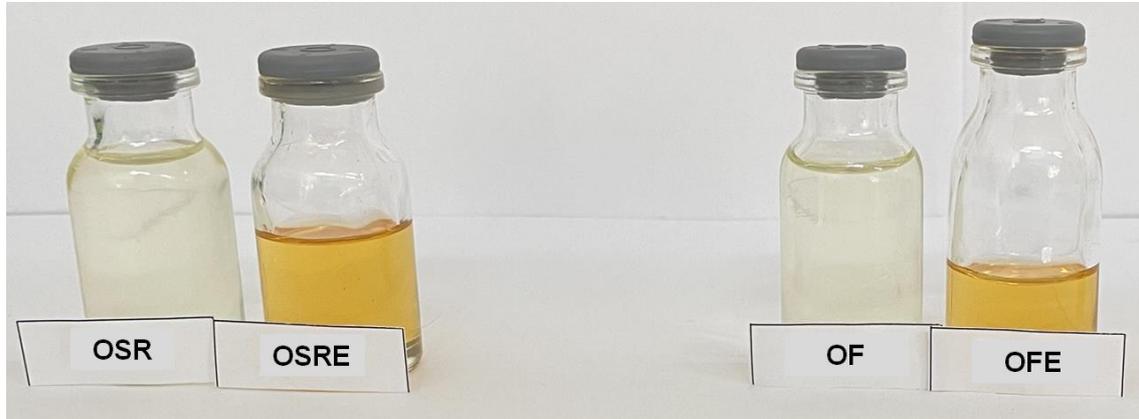
1 – óleo de soja refinado; 2 – óleo de soja refinado epoxidado; 3 – óleo de fritura; 4 – óleo de fritura epoxidado; 5 – ésteres decílicos de óleo soja refinado; 6 – ésteres decílicos epoxidados obtidos do óleo soja refinado; 7 - ésteres decílicos de óleo de fritura; 8 - ésteres decílicos epoxidados obtidos de óleo de fritura.

Estes resultados sugerem melhor dispersão dos materiais de partida na interface água/óleo que possivelmente favoreceu o processo de epoxidação devido à menor viscosidade dos ésteres se comparado aos triacilgliceróis (OSR e OF) (SABI *et al.*, 2022). Os valores de índice de iodo das amostras anterior à etapa de epoxidação (II_0) foram empregados na determinação da porcentagem teórica de grupos epóxi introduzidos ($IE_{teór.}$). De acordo com os resultados obtidos, os valores de $IE_{teór.}$ dos óleos (OSR e OF) foram da ordem de 7,5% enquanto que para os ésteres decílicos foi de 5,3% e 5,2% para o EDOSR e EDOF, respectivamente. Entretanto, os valores experimentais de porcentagem de grupos epóxi introduzidos experimentalmente ($IE_{exp.}$) foram cerca de 2% para todas as amostras. A conversão parcial das insaturações presentes nas cadeias carbônicas dos ácidos graxos dos óleos e ésteres decílicos em grupos oxirano (oxidação das ligações duplas) foram também confirmadas visualmente pelo escurecimento das amostras, como mostrado na Figura 17.

Os rendimentos (relação entre a porcentagem de grupos oxirano introduzidos experimentalmente e os valores teóricos, determinados com base do índice de iodo das amostras antes do processo de epoxidação) obtidos na epoxidação dos óleos vegetais e ésteres decílicos foram bastante similares, da ordem de 25% e 35% respectivamente. Estes valores mostram claramente que o processamento térmico do óleo de soja que resultou na obtenção do óleo de fritura não apresentou forte influência no processo de formação de oxidação das duplas ligações. Entretanto, a seletividade (S) dos processos de epoxidação empregando o óleo de soja refinado (OSR) e ésteres decílicos (da ordem de 85%) foi relativamente maior que o valor obtido para o óleo de fritura (OF) devido à possível abertura dos anéis oxirano introduzidos por reação com compostos de oxidação gerados no processamento térmico de OSR (WANG *et al.*, 2018). Baseado nos resultados obtidos neste estudo, pode-se afirmar que o processo adotado possibilitou a parcial introdução de grupo oxirano nas estruturas dos óleos vegetais e ésteres decílicos, como mostrado nos esquemas representativos mostrados na Figuras 16, um importante requisito para a aplicação destes materiais como possíveis plastificantes na preparação de filmes flexíveis de PVC.

Figura 17 - Ilustração das amostras de óleos vegetais – óleo de soja refinado e óleo de fritura (A) e ésteres decílicos de óleo de soja refinado e óleo de fritura (B) antes e após o processo de epoxidação *in situ*

(A)



(B)



Fonte: Do autor.

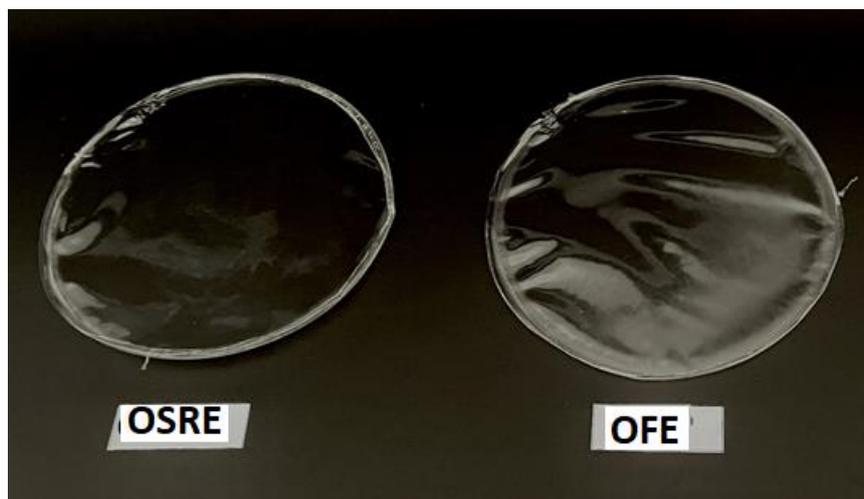
Em que: OSR – óleo de soja refinado; OSRE – óleo de soja refinado epoxidado; OF – óleo de fritura; OFE – óleo de fritura epoxidado; EDOSR – ésteres decílicos de OSR; EDOSRE – ésteres decílicos epoxidados obtidos de OSR; EDOF – ésteres decílicos de OF; EDOFE – ésteres decílicos epoxidados obtidos de OF.

5.3.4 Preparação dos filmes de PVC pelo método casting

Os filmes flexíveis de PVC foram preparados pelo método *casting* (moldagem por evaporação de solvente). Para a execução desta etapa do trabalho, foram empregados os materiais epoxidados como potenciais plastificantes. No caso específico dos ésteres decílicos, foram também empregados os ésteres obtidos sem a etapa de epoxidação *in situ*. Este estudo visa verificar a influência do processo de epoxidação nas propriedades dos filmes. Como

controle, foram preparados filmes contendo apenas PVC (ausência de plastificantes) e empregando ftalato de dioctila (plastificante comercial). Nas Figuras 18 e 19 são mostrados os filmes de PVC produzidos respectivamente com os óleos vegetais epoxidados e ésteres decílicos antes e após a epoxidação, respectivamente. De acordo com os resultados obtidos, todos os filmes preparados com as diferentes amostras foram altamente mais flexíveis que o filme preparado na ausência de plastificantes. Isto se deve à forte interação entre os átomos de cloro existente na estrutura do polímero que promove forte interação química e rigidez. Elevada transparência pode ser observada nos filmes produzidos com os óleos epoxidados. Com relação aos filmes obtidos com os ésteres decílicos, eles apresentaram alta opacidade (menor transparência), com exceção da amostra de ésteres epoxidados obtidos do óleo de fritura. Estes resultados podem ser devido às diferentes estruturas químicas obtidas na etapa de epoxidação dos óleos vegetais e éster decílico de óleo de fritura que favoreceu a dispersão do plastificante obtido a partir da epoxidação de OF com o polímero empregado.

Figura 18 - Ilustração dos filmes de PVC preparados pelo método *casting* a partir dos óleos vegetais epoxidados



Fonte: Do autor.

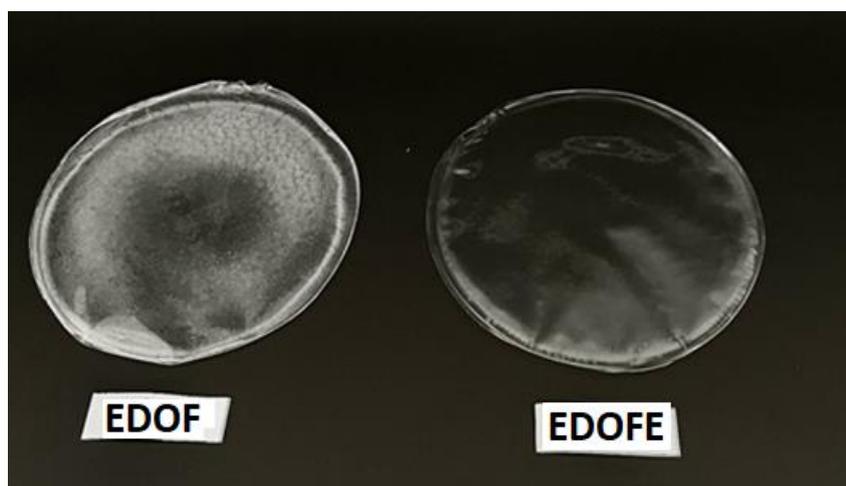
Em que: OSRE – óleo de soja refinado epoxidado; OFE – óleo de fritura epoxidado.

Figura 19 - Ilustração dos filmes de PVC preparados pelo método *casting* a partir dos ésteres decílicos de óleo de soja refinado (A) e óleo de fritura (B) antes e após o processo de epoxidação

(A)



(B)



Fonte: Do autor.

Em que: EDOSR – ésteres decílicos de OSR; EDOSRE – ésteres decílicos epoxidados obtidos de OSR; EDOF – ésteres decílicos de OF; EDOFE – ésteres decílicos epoxidados obtidos de OF.

Além disso, o filme plastificado com os óleos vegetais epoxidados apresentaram maior flexibilidade na qual foi bastante similar ao filme obtido com o plastificante comercial. A aplicação de compostos obtidos do óleo de fritura é mais vantajosa técnica, econômica e ambientalmente mais atrativa devido à sua fácil aquisição, baixo custo e minimiza problemas ambientais decorrente de seu descarte na natureza.

5.4 CONCLUSÃO

A introdução parcial de grupamentos oxiranos nas insaturações das cadeias de óleos de soja refinado, fritura e seus respectivos ésteres decílicos via epoxidação *in situ* foi confirmada por diferentes métodos analíticos. Esta reação de epoxidação é de grande importância para a produção de bioplastificantes para a aplicação de filmes de PVC, um termoplástico amplamente utilizado em segmentos industriais. De acordo com os resultados, o filme de PVC plastificado com óleo de fritura epoxidado apresentou desempenho similar ao plastificante proveniente de óleo de soja refinado epoxidado. Assim, o emprego do óleo de fritura, um material residual proveniente do processamento do alimento, pode ser atrativo para o setor oleoquímico, uma vez que esse material possui um menor custo em relação ao óleo refinado e sua aplicação contribui para a minimização dos problemas ambientais que o descarte inadequado deste óleo causa ao meio ambiente.

6 CONCLUSÕES

As variáveis que influenciam no processo de hidrólise do óleo de soja refinado forma maximizadas e uma conversão de 98,5% do óleo de soja refinado (OSR) foi alcançada após 180 min de reação. Em seguida, a hidrólise do óleo fritura (OF) proporcionou uma conversão de 98% após 180 min de reação. Os ácidos graxos livres (AGL) foram utilizados na reação de esterificação com decanol em meio isento de solvente. Foram empregados como catalisadores lipase de *Thermomyces lanuginosus* na forma livre e imobilizadas através de adsorção preferencialmente iônica em partículas de SiO₂. O biocatalisador na forma imobilizada proporcionou conversões de 87,5% em 180 min e 86,3% em 90 min para os AGL do OSR e OF, respectivamente. Em seguida foi realizada a epoxidação *in situ* de óleos vegetais de soja refinado e de fritura e seus derivados (ésteres decílicos) na presença de ácido fórmico e peróxido de hidrogênio. Essa reação foi confirmada por diferentes métodos analíticos que confirmaram a introdução de grupos epóxi nas duplas ligações existentes na estrutura dos ácidos graxos, um importante requisito na produção de plastificantes para aplicação na preparação de filmes de PVC, uma das classes de termoplásticos mais empregados industrialmente. Por fim, os óleos vegetais e ésteres decílicos forma aplicados como agentes plastificantes em filmes de PVC. De acordo com os resultados obtidos, a aplicação de óleo de fritura e seus derivados obtiveram desempenho similar ao óleo refinado na etapa de epoxidação e propriedades físicas dos filmes poliméricos. Isso mostra claramente que o uso do óleo residual oriundo do processamento de alimentos pode ser satisfatoriamente empregado como matérias-primas, o que também é atrativo para a indústria química devido ao seu menor custo em relação ao óleo refinado, o que pode minimizar seus problemas ao meio ambiente com aos descartes inapropriados.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- 1) Avaliar a influência de diferentes parâmetros (frequência de agitação, razão ácido fórmico/H₂O₂ e temperatura de reação) na epoxidação *in situ* dos óleos vegetais e ésteres, principalmente para aqueles oriundos de matérias graxas residuais (óleo de fritura) para aumentar a eficiência de introdução de grupos oxirano;
- 2) Estudar e os materiais epoxidados obtidos e caracteriza-los por diferentes técnicas como ressonância magnética nuclear e espectroscopia no infravermelho;
- 3) Estudar e caracterizar dos filmes de PVC preparados por diferentes técnicas como termogravimetria, calorimetria diferencial exploratória, espectroscopia no infravermelho, testes de biodegradabilidade, e propriedades físicas como ensaios de ruptura;
- 4) Avaliar de diferentes ácidos orgânicos como acético e cítrico no processo de epoxidação;
- 5) Estudar a epoxidação de outros óleos vegetais comumente encontrados no país;
- 6) Estudar o efeito cinético na epoxidação de óleos vegetais e ésteres;
- 7) Estudar a epoxidação de diferentes materiais catalisadas por lipases;

REFERÊNCIAS

ASTM, D5554-95 Standard Test Method for Determination of the Iodine Value of Fats and Oils, in: ASTM International: West Conshohocken, PA, 2011.

AGUILERA, Adriana F. *et al.* Kinetics and reactor modeling of fatty acid epoxidation in the presence of heterogeneous catalyst. **Chemical Engineering Journal**, v. 375, 121936, Nov. 2019.

AGUILERA, Adriana F. *et al.* Lipase catalyzed green epoxidation of oleic acid using ultrasound as a process intensification method. **Chemical Engineering and Processing – Process Intensification**, v. 174, 108882, Apr. 2022.

ALHANISH, A.; GHALIA A. M. Developments of biobased plasticizers for compostable polymers in the green packaging applications. **Biotechnology Progress**, v. 37, n. 6, p. e3210, Dec. 2021.

BAI, Yuchen. *et al.* Conversion of fatty acid methyl ester to epoxy plasticizer by auto-catalyzed *in situ* formation of performic acid: Kinetic modeling and application of the model. **Journal of Cleaner Production**, v. 259, 120791, June 2020.

BHALERAO, Machhindra S.; KULKARNI Vaishali M; PATWARDHAN Anand V. Ultrasound-assisted chemoenzymatic epoxidation of soybean oil using lipase as biocatalyst. **Ultrasonics Sonochemistry**, v.40, p. 912-920, Jan. 2018.

BRASSEA-PÉREZ, Elizabeth *et al.* “Oxidative stress induced by phthalates in mammals: State of the art and potential biomarkers”. **Environmental Research**, v. 206, 112636, Apr. 2022.

CAI, Deng-Liang *et al.* A sustainable poly(vinyl chloride) plasticizer derivated from waste cooking oil. **Journal of Cleaner Production**, v. 274, 122781, June 2020.

CHANG, W. *et al.* The effects of phthalate ester exposure on human health: A review. **Science of the total Environment**, v.786, Sept. 2021.

FENG, Guodong *et al.* An efficient bio-based plasticizer for poly (vinyl chloride) from waste cooking oil and citric acid: Synthesis and evaluation in PVC films. **Journal of Cleaner Production**, v. 189, p. 334–343, Apr.2018.

HE, Zhipeng *et al.* Ultrasonication-assisted rapid determination of epoxide values in polymer mixtures containing epoxy resin. **Analytical Methods**, v. 6, p. 4257-4261, 2014.

HUANG, Jing *et al.* Fabrication of hollow cage-like CaO catalyst for the enhanced biodiesel production via transesterification of soybean oil and methanol. **Fuel**, v. 290, 119799, Apr. 2021.

JADHAV, Pravin D.; PATWARDHAN, Anand V.; KULKARNI, Ravindra D. Kinetic study of *in situ* epoxidation of mustard oil. **Molecular Catalysis**, v. 511, 111748, July 2021.

JIN, Haoquan *et al.* Application of Raman spectroscopy in the rapid detection of waste cooking oil. **Food Chemistry**, v. 362, 130191, Nov. 2021.

KHEMTHONG, Pongtanawat *et al.* Advances in catalytic production of value-added biochemical and biofuels via furfural platform derived lignocellulosic biomass. **Biomass and Bioenergy**, v. 148, 106033, May 2021.

KURANSKA, Maria *et al.* Investigation of epoxidation of used cooking oils with homogeneous and heterogeneous catalysts. **Journal of Cleaner Production**, v. 236, 117615, Nov. 2019.

OLIVEIRA, Marcone A. L. de *et al.* Capítulo 59 – Determination of Olive Oil Acidity. **Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention**, p. 545-552, 2010.

OLIVIERI, Gustavo V; QUADROS Jacyr V. de; GIUDICI, Reinaldo. Epoxidation Reaction of Soybean Oil: Experimental Study and Comprehensive Kinetic Modeling. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 54, p. 18808-18823, Sept. 2020.

PARREIRA, Thais F. *et al.* Quantitative Determination of Epoxidized Soybean Oil Using Near-Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration. **Applied Spectroscopy**, v. 56, Apr. 2002.

PATIL, Sangram S.; JENA, Hara M. Performance assessment of polyvinyl chloride films plasticized with *Citrullus lanatus* seed oil based novel plasticizer. **Polymer Testing**, v. 101, 107271, Sept. 2021.

SABI, Guilherme J. *et al.* Decyl esters production from soybean-based oils catalysed by lipase immobilized on differently functionalized rice husk silica and their characterization as potential biolubricants. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 157, 110019, July 2022.

STATISTA. Vegetable oils: global consumption 2013/14 to 2021/20211, by oil type. London, 2022. Disponível em : <https://www.statista.com/statistics/263937/vegetable-oils-global-consumption/>. Acesso em: 20 May 2022.

SUZUKI, Andreia H. *et al.* Sustainable synthesis of epoxidized waste cooking oil and its application as a plasticizer for polyvinyl chloride films. **European Polymer Journal**, v. 99, p. 142–149, Feb. 2018.

THUY, Nguyen Thi T.; LAN Pham N. Epoxidation of Vietnam rubber seed oil by using peroxophosphatotungstate catalyst complex based on $\text{Na}_2\text{WO}_4/\text{H}_3\text{PO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ with the presence of phase-transfer catalyst. **Molecular Catalysis**, v. 509, 111645, June 2021.