

# EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO

por

Rosana de Cassia de Souza Schneider

Tese apresentada para cumprimento parcial das  
exigências para o título de

Doutor em Química

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

INSTITUTO DE QUÍMICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

## **DECLARAÇÃO DE AUTORIA E ORIENTAÇÃO**

Este trabalho foi orientado pela profa. Dra. Márcia Martinelli e co-orientado pela profa. Dra. Eline Bastos Caramão.

Os experimentos, que tiveram início em abril de 1999, foram desenvolvidos nos laboratórios de pesquisa em Química e Central Analítica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e nos laboratórios de Química e Central Analítica da Universidade de Santa Cruz do Sul.

Em dezembro de 2002, a parte experimental relativa aos estudos sobre extração com fluido supercrítico, foi desenvolvida no Município de Erechim - RS, no Laboratório de Termodinâmica Aplicada, do Centro Tecnológico da Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus Erechim (URI), sob a supervisão do prof. Dr. Cláudio Dariva.

Esta tese foi julgada adequada para a obtenção do título de Doutor em Química e aprovada em sua forma final, pela orientadora e pela banca examinadora do Programa de Pós-Graduação em Química.

Orientadora: Profa. Dra. Márcia Martinelli

Co-orientadora: Profa. Dra. Elina Bastos Caramão

Banca examinadora:

---

Prof. Dr. Joaquin Ariel Morón Villarreyes

*Fundação Universidade de Rio Grande – Rio Grande - RS*

---

Prof. Dr. José Vladimir de Oliveira

*Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Erechim - RS*

---

Profa. Dra. Maria Luiza Ambros von Holleben

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre – RS*

---

Profa. Dra. Annelise Engel Gerbase

*Universidade Federal do Rio Grande do Sul – Porto Alegre - RS*

---

Prof. Dr. Jairton Dupont

*Coordenador do Curso de Pós- Graduação em Química*

*Aprendi que  
o preço é alto para nos tornarmos a pessoa que queremos ser  
e que nunca seremos o que queremos ser.  
É mais fácil nos guiarmos por objetivos do que por sonhos  
e que estes objetivos devem estar de acordo  
com nossa capacidade física e mental.  
Por outro lado, é lindo saber que ao alcançar o objetivo  
ainda se tem muito para fazer.  
Isto é a essência da vida.*

*Acima de tudo, aprendi que não existe nada mais importante do que nossa família.*

*Aos meus pais, Maria Eloá e Octávio e aos meus irmãos Fátima e Lúcio, que participaram na  
construção do meu futuro.*

***Em especial às minhas filhas Manuella e Carolina e ao meu marido Fredi,  
que amo muito.***

## AGRADECIMENTOS

Em especial às minhas orientadoras, Márcia Martinelli e Elina B. Caramão, pelas quais tenho muito respeito e admiração pelo que são como profissionais e como seres humanos. Agradeço muito por terem acreditado na minha capacidade e responsabilidade.

Aos colegas do departamento de Química e Física da UNISC, em especial àqueles que estavam mais próximos e me ajudaram, como os professores Marco Ferrão, Lourdes Kist, Valeriano Corbellini, Cláudia Mählmann, Nádia Baccar Luciano Dornelles e Wolmar Severo.

Aos bolsistas de iniciação científica e estagiários que trabalharam comigo nestes quatro anos, agradeço com carinho a Fabiane Trombetta, Vanessa Baldissarelli, Melissa Rodrigues, Eduardo Pons, Eduardo Thomé, Leandro Wickert, Daniela M. Alves, Diogo Kortz, Diana Bottega e Juliano Vicenti.

Aos amigos Renata, Lúcio, Camila e nos últimos tempos a Vitória, que estavam sempre presentes nos momentos de descontração.

Aos colegas da UFRGS que participaram em algum momento de minha trajetória de estudos, dos quais eu lembro coisas boas como a Maria Regina, Pedro, Irajá, Eniz, Maria Inês, Valéria, Fernanda, Ana Paula, Márcia Brasil, Thaís, Marta, Cecília, Patrícia, Déborah e Aline.

Aos professores do Instituto de Química da UFRGS, com destaque à prof<sup>a</sup>. Annelise Engel Gerbase, pelo carinho e contribuições para a melhoria do trabalho, e ao prof. César Liberato Petzhold por auxiliar nas análises por cromatografia líquida de alta eficiência.

À prof<sup>a</sup>. Maria Luiza Ambros von Holleben, pelo carinho com que auxiliou na discussão de resultados.

Aos professores Débora de Oliveira, José Vladimir de Oliveira e Cláudio Dariva, da URI, pelas contribuições ao trabalho experimental.

À Poliagro Comércio e Representações Ltda. e ao prof. Jorge Amaral de Moraes, do Departamento de Ciências Econômicas da UNISC, pela parceria no projeto de análise da viabilidade de cultivo de mamona no Vale do Rio Pardo –RS.

À UNISC, pelo Programa de Qualificação Docente, do qual me beneficieei durante estes quatro anos.

À FAPERGS, FINEPE/CTPETRO e CNPq, pelo suporte financeiro para a realização deste trabalho.

Enfim, a todos que de uma forma ou outra colaboraram para a realização deste trabalho.

## LISTA DE TRABALHOS APRESENTADOS

1. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; ALVES, Daniela Matte; WICKERT, Leandro Ricardo; PONS, Eduardo Lahud; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Análise qualitativa dos esteróis presentes na fase insaponificável do óleo de rícino. In: X ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2002, Joinville, SC. Livro de Resumos. 2002.
2. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; RODRIGUES, Melissa Machado; VICENTI, Juliano R de Menezes; FERRÃO, Marco Flores; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; OLIVEIRA, Débora de; OLIVEIRA, José Vladimir de. Aplicação da quimiometria em técnicas instrumentais visando quantificação de ricinoleato de etila em biodiesel. In: X ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2002, Joinville, SC. Livro de Resumos. 2002.
3. RODRIGUES, Melissa Machado; VICENTI, Juliano R de Menezes; SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; OLIVEIRA, José Vladimir de; OLIVEIRA, Débora de. Caracterização dos ésteres etílicos obtidos na alcoólise enzimática do óleo de rícino. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, Santa Cruz do Sul, RS, 2002.
4. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; ALVES, Daniela Matte; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Composição da fase insaponificável do óleo de *Ricinus communis*. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá, MT, 2002.
5. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; WICKERT, Leandro Ricardo; ALVES, Daniela Matte; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Controle de qualidade do óleo de rícino extraído de sementes cultivadas no Vale do Rio Pardo - RS. In: XVII SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 2002, Cuiabá. Livro de Resumos. 2002.
6. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; RODRIGUES, Melissa Machado; VICENTI, Juliano R de Menezes; FERRÃO, Marco Flores; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; OLIVEIRA, José Vladimir de; OLIVEIRA, Débora de. Determinação de ricinoleato de etila obtido na alcoólise enzimática do óleo de rícino. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA

E EXTENSÃO, 2002, Santa Cruz do Sul, RS. 2002.

7. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; THOMÉ, Eduardo; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Determinação dos produtos de desproporcionamento do limoneno obtidos durante a HCT do óleo de rícino. In: X ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2002, Joinville, SC. Livro de Resumos. 2002.
8. BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Determinação dos produtos de desproporcionamento do limoneno obtidos durante a hidrogenação catalítica por transferência de hidrogênio do óleo de rícino. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2002, Santa Cruz do Sul, RS, 2002.
9. RODRIGUES, Melissa Machado; VICENTI, Juliano R de Menezes; SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; FERRÃO, Marco Flores; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; OLIVEIRA, Débora de; OLIVEIRA, José Vladimir de. Estudo quimiométrico de técnicas cromatográficas e espectroscópicas visando a quantificação de ricinoleato de etila em biodiesel. In: XLII CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2002, Rio de Janeiro, RJ, Livro de Resumos. 2002.
10. ALVES, Daniela Matte; SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Extração e avaliação do índice de insaponificáveis presentes no óleo de rícino. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2002, Santa Cruz do Sul, RS, 2002.
11. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; THOMÉ, Eduardo; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Hidrogenação catalítica por transferência do óleo de rícino visando a produção do ácido ceto-esteárico. In: VIII SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E VII JORNADA DE ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO, 2002, Santa Cruz do Sul, RS, 2002.
12. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; CORBELLINI, Valeriano Antonio; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Hidrólise parcial de óleo de mamona por esporos imobilizados de *Aspergillus niger*. In: 25 REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE QUÍMICA, 2002, Poços de Caldas, MG, Livro de Resumos. 2002.
13. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa



- Zanon; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. SPME - CG/MS determination of the disproportionation products of limonene used for the catalytic hydrogenation of castor oil. In: 25TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CAPILLARY CHROMATOGRAPHY', 2002, Riva del Garda, Itália, 2002.
14. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Análise dos componentes presentes na fase insaponificável do óleo de mamona (*Ricinus communis*). In: IX ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2001, Londrina, PR. Livro de Resumos. 2001.
  15. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; FERRÃO, Marco Flores; RODRIGUES, Melissa Machado; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Análise exploratória do óleo de *Ricinus communis* extraído de amostras provenientes do Vale do Rio Pardo - RS. In: 11 ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 2001, Campinas, SP, Livro de Resumos. 2001.
  16. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; RODRIGUES, Melissa Machado; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Análise por CG-EM de ácidos graxos em óleo de mamona hidrogenado. In: IX ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2001, Londrina, PR, Livro de Resumos. 2001.
  17. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; WICKERT, Leandro Ricardo; RODRIGUES, Melissa Machado; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Avaliação da qualidade e quantidade de óleo de mamona produzido no Vale de Rio Pardo - RS. In: XLI CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2001, Porto Alegre. 2001.
  18. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; RODRIGUES, Melissa Machado; PONS, Eduardo Lahud; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; KIST, Lourdes Teresinha. Estudio de la composicion e índices fisico-químicos del aceite de mamona extraido de variedades cultivadas en el estado do Rio Grande do Sul-Brazil. In: IV CONGRESO INTERNACIONAL DE QUIMICA, 2001, Havana, Cuba, Revista Cubana de Química. 2001. v. XIII, p. 416-424.
  19. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; WICKERT, Leandro Ricardo; PONS, Eduardo Lahud; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudo preliminar da estabilidade química do óleo de mamona extraído de amostras de sementes provenientes do Vale do Rio Pardo-RS. In: IX ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2001, Londrina, PR,

Livro de resumos. 2001.

20. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; BOTTEGA, Diana Pagliochi; MARTINELLI, Márcia; HOLLEBEN, M. L. A. von; CARAMÃO, Elina Bastos. Hidrogenação catalítica por transferência do óleo de mamona: Estudo de doadores de H<sub>2</sub>. In: XLI CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2001, Porto Alegre. 2001.
21. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Identificação de componentes minoritários no óleo de *Ricinus communis* por CG/EM. In: XLI CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2001, Porto Alegre, RS, 2001.
22. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; RODRIGUES, Melissa Machado; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Otimização da análise por CG/EM de ácidos graxos em óleo de mamona hidrogenado. In: 11 ENCONTRO NACIONAL DE QUÍMICA ANALÍTICA, 2001, Campinas, SP. Livro de resumos. 2001.
23. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; HOLLEBEN, Maria Luiza Ambros von. Preliminary studies of limonene employment as hydrogen donor in the transfer catalytic hydrogenation of the castor oil. In: IV CONGRESO INTERNACIONAL DE QUIMICA, 2001, Havana. Revista da Sociedade Cubana de Química. 2001. v. XIII, p. 305.
24. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BOTTEGA, Diana Pagliochi; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. The castor oil: transfer catalytic hydrogenation using sodium formate solution as donor. In: IV CONGRESO INTERNACIONAL DE QUIMICA, 2001, Havana, Cuba, Revista Cubana de Química. 2001. v. XIII, p. 310.
25. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud. Análise da viabilidade de plantio da cultura da Mamona no Vale do Rio Pardo. In: 7 JORNADA NACIONAL DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA / 52 REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PELO PROGRESSO DA CIÊNCIA, 2000, Brasília, GO, 2000.
26. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; RODRIGUES, Melissa Machado; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Análise da viabilidade de plantio de mamona no Vale do Rio Pardo: Extração e avaliação do óleo. In: VIII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2000, Santa Cruz do Sul, RS, Livro de resumos. 2000.

27. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; KORTZ, Diogo Eduardo Maioli; RODRIGUES, Melissa Machado; PONS, Eduardo Lahud; KIST, Lourdes Teresinha; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudo do óleo de variedades de *Ricinus communis*. In: VIII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2000, Santa Cruz do Sul. Livro de Resumos. 2000.
28. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; RODRIGUES, Melissa Machado; PONS, Eduardo Lahud; KIST, Lourdes Teresinha; MORAES, Jorge Amaral de; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudo dos constituintes e índices físico-químicos do óleo de mamona extraído de variedades cultivadas no Vale do Rio Pardo-RS. In: XL CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2000, Recife. 2000.
29. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; PONS, Eduardo Lahud; RODRIGUES, Melissa Machado; KORTZ, Diogo Eduardo Maioli; KIST, Lourdes Teresinha; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudo físico químico do óleo de variedades de *Ricinus communis* existentes no Vale do Rio Pardo - Rio Grande do Sul. In: XXIII REUNIÃO ANUAL DA SBQ, 2000, Poços de Caldas, MG, Livro de Resumos. 2000.
30. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudos preliminares do emprego de limoneno como doador na hidrogenação catalítica por transferência do óleo de mamona. In: VIII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2000, Santa Cruz do Sul, RS, Livro de Resumos. 2000.
31. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; RODRIGUES, Melissa Machado; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Estudos preliminares do emprego do limoneno como doador na hidrogenação por transferência do óleo de mamona. In: XL CONGRESSO BRASILEIRO DE QUÍMICA, 2000, Recife, PE, Livro de Resumos. 2000.
32. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BOTTEGA, Diana Pagliochi; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Óleo de mamona: Estudos da hidrogenação catalítica por transferência empregando solução de formiato de sódio como doador. In: VIII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 2000, Santa Cruz do Sul. Livro de resumos. 2000.
33. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BOTTEGA, Diana Pagliochi; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos. Transformação do óleo de mamona: Hidrogenação catalítica por transferência. In: VI SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E V JORNADA DE ENSINO PESQUISA E EXTENSÃO DA UNISC, 2000, Santa Cruz do Sul. Livro de Resumos. 2000.

34. RODRIGUES, Melissa Machado; PONS, Eduardo Lahud; SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; KIST, Lourdes Teresinha; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia. Otimização da extração do óleo de mamona (*Ricinus communis*). In: VII ENCONTRO DE QUÍMICA DA REGIÃO SUL, 1999, Tubarão, SC, Livro de Resumos. 1999.

### **ARTIGOS COMPLETOS PUBLICADOS EM PERIÓDICOS**

1. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; MORAES, Jorge Amaral de; CARAMÃO, Elina Bastos; MARTINELLI, Márcia; BOCK, Flávio Luis Fromming; ZANON, José Inácio; RODRIGUES, Melissa Machado; PONS, Eduardo Lahud; WICKERT, Leandro Ricardo. Análise de viabilidade de cultivo da mamona no Vale do Rio Pardo. Revista Redes, Santa Cruz do Sul, v. 7, p. 23-39, 2002.
2. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; TROMBETTA, Fabiane; MARTINELLI, Márcia; CARAMÃO, Elina Bastos; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon. Optimization of GC/MS analysis of fatty acids in hydrogenated castor oil obtained by catalytic hydrogenation transfer. Journal of the Brazilian Chemical Society, *submetido*, 2002.
3. SCHNEIDER, Rosana de Cassia de Souza; BALDISSARELLI, Vanessa Zanon; MARTINELLI, Márcia; HOLLEBEN, M L A Von; CARAMÃO, Elina Bastos. Determination products of limonene used for the catalytic hydrogenation of Castor oil. Journal of Chromatography - A, *985(2003) 313-319*.

**Resumo**

**EXTRAÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E  
TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO**

por Rosana de Cassia de Souza Schneider

O óleo de rícino apresenta inúmeras aplicações, pois se trata de uma matéria prima versátil e de fonte renovável. O estudo de extração, caracterização e transformação do óleo de rícino foi realizado com o objetivo de avaliar o óleo obtido por diferentes métodos e otimizar novas tecnologias para a produção de derivados do óleo de rícino. Com este intuito, realizou-se, primeiramente, a extração e caracterização do óleo de rícino de sementes provenientes do Vale do Rio Pardo-RS. A extração da semente e da torta de mamona, obtida na prensagem da semente, também foi realizada por CO<sub>2</sub> a alta pressão. Por meio dos métodos de extração por prensagem e extração por solvente, foi possível obter 41,1±3,5 % de óleo. Na extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão o rendimento de extração de óleo foi baixo, no entanto foi possível identificar a presença de outros componentes presentes na semente. Na transformação deste óleo foram estudadas a hidrogenação catalítica por transferência de hidrogênio - CTH e a etanólise enzimática. A CTH foi realizada com limoneno e cicloexeno como solventes doadores de hidrogênio e produziu principalmente o ácido cetoesteárico. Este método demonstrou ser eficiente e rápido, substituindo o H<sub>2</sub>(g) utilizado com aquecimento e altas pressões. Na etanólise enzimática, foi possível a conversão total da triricinoleína, presente no óleo, produzindo ricinoleato de etila. Com os métodos de extração e transformação otimizados foi possível reconhecer a estrutura e propriedades do óleo de rícino e contribuir para a utilização de novas tecnologias na oleoquímica.

**Abstract**

**EXTRACTION, CHARACTERIZATION AND  
TRANSFORMATION OF CASTOR OIL**

Rosana de Cassia de Souza Schneider

Castor oil presents several applications since it is a versatile starting material and a product from a renewable source. Studies on its extraction, characterization and transformation were done in order to evaluate the quality of the oil obtained by different methods and optimization of new technologies for the production of Castor oil derivatives. For the preliminary studies, seeds from Vale do Rio Pardo – RS were crushed, its oil extracted by pressing method and characterized. Extraction through pressing seeds and from high-pressure CO<sub>2</sub> of the “cake” was also employed. By using both conventional pressing and solvent extraction, 41.1±3.5% of oil was obtained. Using high pressure CO<sub>2</sub> the amount of oil obtained was negligible, however other compounds were identified. On the modification of Castor oil, CTH for hydrogenation and enzymatic ethanolysis were studied. On CHT system, Pd/C were the catalyst and limonene or ciclohexene were used as hydrogen donor. The major product obtained from these reactions was the keto-stearic derivative. The advantage of CTH is the use of considerable low temperature and atmospheric pressure for the reaction. Using the enzymatic approach for the ethanolysis process, 100% of conversion was obtained. With the methodology used in this work it was possible to characterized the oil produced in Vale do Rio Pardo, evaluate the proprieties the oil obtained by each method of extraction investigated and evaluate the possibility of use of new technologies for its transformation.

## ABREVIATURAS

12- C=O C18:0	-Ácido cetoesteárico
12-OH 9- C18:1	-Ácido ricinoléico
12-OH C18:0	-Ácido hidroxiesteárico
AOCS	-American Oil Chemists' Society
BSA	- <i>bis</i> trimetil silil acetamida
C16:0	-Ácido palmítico
C18:0	-Ácido esteárico
C18:1	-Ácido oléico
C18:2	-Ácido linoléico
C18:3	-Ácido linoléico
CTH	- Hidrogenação Catalítica por Transferência de Hidrogênio
DCO	-Óleo de rícino desidratado
FTIR	-Espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier
GC	-Cromatografia gasosa
GC-MSD	-Cromatografia gasosa com detector de espectrometria de massas
GC-FID	-Cromatografia gasosa com detector de ionização em chama
GPC	-Cromatografia de permeação em gel
HATR	-Refletância total atenuada horizontal
HCO	-Oleo de rícino hidrogenado
HPLC	-Cromatografia líquida de alta eficiência
HPSEC	-Cromatografia por exclusão de alta Eficiência
IR	-Espectroscopia na região do infravermelho
MSTFA	-N-trimetil silil trifluoracetamida
MUFAs	-Ácidos graxos monoinsaturados
PCA	-Análise por componentes principais
PDMS	-Polidimetilsiloxano

PM	-Peso molecular
PUFAs	-Ácidos graxos poliinsaturados
<sup>1</sup> H NMR	-Ressonância magnética nuclear de hidrogênio
<sup>13</sup> C NMR	- Ressonância magnética nuclear de carbono <sup>13</sup>
SFE	-Extração por fluido supercrítico
SIM	-Monitoramento do íon seletivo
SPE	-Extração em fase sólida
SPME	-Microextração em fase sólida
TIC	-Cromatograma do íon total
TMS	-Trimetilsilano



## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Esquema de utilização da mamoneira.....	10
<b>Figura 2:</b> Fórmula estrutural da ricinina.....	11
<b>Figura 3:</b> Estrutura tridimensional da ricina, obtida por cristalografia de Raios X.....	11
<b>Figura 4:</b> Diagrama de fases para o CO <sub>2</sub> .....	14
<b>Figura 5:</b> Esquema da SFE.....	18
<b>Figura 6:</b> Sistema <i>home made</i> de extração por CO <sub>2</sub> supercrítico.....	19
<b>Figura 7:</b> Fórmula estrutural da triricinoleína.....	24
<b>Figura 8:</b> Fórmula estrutural básica dos esteróis.....	25
<b>Figura 9:</b> Fórmula estrutural dos tocoferóis.....	26
<b>Figura 10:</b> Classificação dos triacilgliceróis.....	27
<b>Figura 11:</b> Fórmula estrutural do ácido oléico, eláidico e esteárico.....	28
<b>Figura 12:</b> Estolitos do ácido ricinoléico.....	32
<b>Figura 13:</b> Reações químicas nos três pontos de funcionalidade do óleo de rícino.....	33
<b>Figura 14:</b> Representação teórica do consumo das insaturações de ácidos graxos.....	34
<b>Figura 15:</b> Esquema de reação para a hidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados.....	34
<b>Figura 16:</b> Caminhos de hidrogenação do ricinoleato.....	36
<b>Figura 17:</b> Mecanismo proposto para a produção de 12-cetoestearato a partir de reação com Ni Raney.....	38
<b>Figura 18:</b> Reação de desproporção completa do limoneno.....	45
<b>Figura 19:</b> Produtos de desproporção do limoneno.....	46
<b>Figura 20:</b> Produtos de desproporção do cicloexeno.....	46
<b>Figura 21:</b> Reações de migração do grupo acila que podem ocorrer durante o processo catalisado por uma lipase regioespecífica.....	51
<b>Figura 22:</b> Esquema de produção de biodiesel.....	55
<b>Figura 23:</b> Dispositivo amostrador de SPME.....	61
<b>Figura 24:</b> Representação da natureza tridimensional dos dados de GC-MSD.....	63
<b>Figura 25:</b> Mecanismo de fragmentação dos ésteres metílicos de ácidos graxos na ionização por impacto de elétrons.....	64
<b>Figura 26:</b> Retenção de acilgliceróis em uma fase reversa C18.....	66
<b>Figura 27:</b> Esquema das potencialidades da aplicação da PCA.....	72

<b>Figura 28:</b>	Esquema da calibração multivariada empregando os algoritmos de regressão linear múltipla (MLR), regressão por componentes principais (PCR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS). .....	74
<b>Figura 29:</b>	Esquema da metodologia de trabalho.....	77
<b>Figura 30:</b>	Fluxograma da extração.....	81
<b>Figura 31:</b>	Representação dos experimentos de extração por prensagem a frio.....	83
<b>Figura 32:</b>	Representação dos experimentos de extração por solvente.....	85
<b>Figura 33:</b>	Fluxograma dos experimentos de extração por CO <sub>2</sub> a alta pressão.....	87
<b>Figura 34:</b>	Esquema da separação em coluna dos extratos de CO <sub>2</sub> a alta pressão. ....	88
<b>Figura 35:</b>	Representação da molécula da triricinoleína conforme interpretação dos espectros de <sup>1</sup> H e <sup>13</sup> C NMR. ....	98
<b>Figura 36:</b>	Esquema da hidrogenação: A – CTH e B- Hidrogenação com H <sub>2</sub> .....	101
<b>Figura 37:</b>	Relação estequiométrica dos substratos utilizados na etanólise. ....	105
<b>Figura 38:</b>	Esquema da etanólise enzimática.....	106
<b>Figura 39:</b>	Rendimento em óleo com relação à época de plantio. ....	115
<b>Figura 40:</b>	Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos resultados obtidos para peso específico (PC1) e índice de refração (PC2) das amostras de óleo obtidas da safra 00/01 extraídas por solvente(S) e por prensagem (P).....	117
<b>Figura 41:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) de uma amostra de óleo de rícino obtido da extração por solvente. ....	118
<b>Figura 42:</b>	Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos resultados obtidos para a composição de ácidos graxos presentes nas amostras de óleo extraídos por prensagem (p), por solvente (s) e comercial (c).....	120
<b>Figura 43:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) dos componentes insaponificáveis extraídos de um óleo que foi obtido por prensagem do cultivar T1. ....	121
<b>Figura 44:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem e por solvente do cultivar T1. ....	123
<b>Figura 45:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem dos cultivares C1 e IAC 226.....	123
<b>Figura 46:</b>	Cromatograma de HPLC da amostra de óleo do cultivar G1 extraído por prensagem. ....	124
<b>Figura 47:</b>	Gráfico da concentração relativa de triricinoleína e do Índice de acidez com relação à pressão de extração.....	125
<b>Figura 48:</b>	Espectro de <sup>1</sup> H NMR de amostra de óleo extraída por prensagem.....	127
<b>Figura 49:</b>	Espectro de <sup>13</sup> C NMR -APT da amostra de óleo do cultivar G1 extraído por prensagem. ....	128
<b>Figura 50:</b>	Espectro no infravermelho de amostra de óleo extraída por prensagem. ....	129
<b>Figura 51:</b>	Rendimento de extração por CO <sub>2</sub> a alta pressão com relação às condições de extração. ....	132

<b>Figura 52:</b>	Rendimento de extração por CO <sub>2</sub> a alta pressão da semente e da torta a 175 bar e 35 <sup>0</sup> C.....	133
<b>Figura 53:</b>	Rendimento da extração por CO <sub>2</sub> a alta pressão realizada com as tortas antes e após a extração por solvente, a 175 bar e 35 <sup>0</sup> C.....	133
<b>Figura 54:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) dos extratos F1, F2, F3, F4 e F5 do estudo 2 da extração com CO <sub>2</sub> a alta pressão.....	135
<b>Figura 55:</b>	Ampliação do Cromatograma do íon total (TIC) do extrato F4 do estudo 2 da extração com CO <sub>2</sub> a alta pressão.....	137
<b>Figura 56:</b>	Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras dos estudos 1 a 5.....	139
<b>Figura 57:</b>	Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras dos estudos 1 a 15.....	140
<b>Figura 58:</b>	Espectros de <sup>1</sup> H NMR do produto da extração realizada a 250bar e 20 <sup>0</sup> C (estudo 2). .....	141
<b>Figura 59:</b>	Fórmula estrutural da cafeína.....	141
<b>Figura 60:</b>	Fórmula estrutural do esqualeno.....	142
<b>Figura 61:</b>	Caminhos de reação na CTH do óleo de rícino empregando limoneno ou cicloexeno como solvente doador de hidrogênio e catalisador Pd/C.....	149
<b>Figura 62:</b>	Variação do índice de iodo em função do tempo de amostras obtidas com diferentes percentuais de Pd/C.....	150
<b>Figura 63:</b>	Proposta mecanística para a formação de hidróxi e cetoestearatos.....	151
<b>Figura 64:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) das substâncias extraídas na fase hexânica após a CTH do óleo de rícino com limoneno como solvente doador (1:3), 4% Pd/C e 178 <sup>0</sup> C, 3horas.....	153
<b>Figura 65:</b>	A) Espectro de <sup>1</sup> H NMR do óleo parcialmente hidrogenado com 1:3 de óleo – limoneno, 1% de Pd/C, 178 <sup>0</sup> C. B)Espectro de <sup>13</sup> C NMR do óleo de rícino hidrogenado com 1:3 de óleo –limoneno, 1% de Pd/C, 178 <sup>0</sup> C.....	156
<b>Figura 66:</b>	Espectro no infravermelho do óleo de rícino hidrogenado com limoneno como doador de hidrogênio.....	158
<b>Figura 67:</b>	Ampliação dos espectros de FTIR do óleo de rícino(A) e do óleo de rícino hidrogenado (B e C), a 178 <sup>0</sup> C e 1:3 óleo-limoneno.....	158
<b>Figura 68:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) dos ésteres metílicos dos produtos de CTH do óleo de rícino (0,5% Pd/C, 170 <sup>0</sup> C, 1:3 óleo-limoneno) obtidos na otimização da separação dos isômeros formados. A) Coluna DB wax-20M e B) Coluna HP 5 após a derivatização com BSA.....	160
<b>Figura 69:</b>	Produtos formados na derivatização do óleo de rícino e do óleo de rícino hidrogenado.....	161
<b>Figura 70:</b>	Espectros de RMN: A) Espectro de <sup>1</sup> H NMR do óleo hidrogenado com 1:3 de óleo –cicloexeno, 2% de Pd/C, 80 <sup>0</sup> C. B)Espectro de <sup>13</sup> C NMR do óleo de rícino hidrogenado com 1:3 de óleo –cicloexeno, 2% de Pd/C, 80 <sup>0</sup> C.....	164
<b>Figura 71:</b>	Cromatograma do íon total (TIC) do produto da CHT do óleo de rícino	

empregando 1:3 de óleo-cicloexeno, 2%Pd/C, 80 <sup>0</sup> C.....	165
<b>Figura 72:</b> Cromatograma do íon total (TIC) de uma amostra de óleo de rícino hidrogenado a partir de 2% Pd/C, 3h, 40mL/min de H <sub>2</sub> (g) e agitação magnética.....	166
<b>Figura 73:</b> Espectro de <sup>1</sup> H NMR do óleo hidrogenado a partir de 2% Pd/C, 2h, 40mL/min de H <sub>2</sub> (g) e agitação magnética.....	166
<b>Figura 74:</b> Grau de hidrogenação das reações de hidrogenação realizadas com 1 e 2% de Pd/C, à 40 mL min <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> (g) e 25 <sup>0</sup> C.....	167
<b>Figura 75:</b> Percentual de OH remanescente nas reações de hidrogenação realizadas com 1 e 2% de Pd/C, à 40 mL min <sup>-1</sup> de H <sub>2</sub> (g) e 25 <sup>0</sup> C.....	168
<b>Figura 76:</b> Cromatograma do íon seletivo (SIM) dos ésteres etílicos obtidos na etanólise enzimática do óleo de rícino. ....	171
<b>Figura 77:</b> Espectro no infravermelho de uma amostra de produto da etanólise enzimática (vermelho) comparado ao do óleo de rícino comercial (azul).....	172
<b>Figura 78:</b> Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanólise enzimática do óleo de rícino, empregando a enzima <i>Lipozyme IM</i> , com relação aos estudos E1 a E9.....	173
<b>Figura 79:</b> Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanólise enzimática do óleo de rícino empregando a enzima <i>Novozym 435</i> , com relação aos estudos E1 a E9.....	174
<b>Figura 80:</b> Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanólise enzimática do óleo de rícino empregando a enzima <i>Novozym 435</i> , com relação à concentração de enzima. ....	175
<b>Figura 81:</b> Representação gráfica da correlação da concentração de ricinoleato de etila com os espectros no infravermelho empregando regressão por PLS.....	176
<b>Figura 82:</b> Cromatograma de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do produto da reação de etanólise E4-3h realizada com a enzima <i>Lipozyme IM</i> . ....	177
<b>Figura 83:</b> Espectro de <sup>1</sup> H NMR dos produtos das reações E3 -1h (A) e E3-4h(B) realizada com a enzima <i>Lipozyme IM</i> . ....	178
<b>Figura 84:</b> Espectro de <sup>13</sup> C NMR dos produtos da reação E3 -4h. ....	179
<b>Figura 85:</b> Variação do rendimento das reações de etanólise enzimática com a enzima <i>Lipozyme IM</i> em função do tempo.....	181
<b>Figura 86:</b> Variação do rendimento das reações de etanólise enzimática com enzima <i>Novozym 435</i> em função do tempo.....	183
<b>Figura 87:</b> Variação do rendimento das reações do estudo E9L realizado em triplicata.....	184
<b>Figura 88:</b> Variação do rendimento das reações do estudo E9N realizado em triplicata. ....	185

## ÍNDICE DE TABELAS

<b>TABELA I</b> -Composição química média das sementes de mamona. ....	9
<b>TABELA II</b> -Parâmetros físico-químicos de alguns fluidos supercríticos. ....	15
<b>TABELA III</b> -Comparação de propriedades de gás, líquido e fluido supercrítico. ....	16
<b>TABELA IV</b> -Variação da viscosidade de óleos vegetais em função da temperatura. ....	22
<b>TABELA V</b> -Parâmetros físico-químicos do óleo de rícino. ....	23
<b>TABELA VI</b> -Composição de ácidos graxos presentes no óleo de rícino. ....	24
<b>TABELA VII</b> -Classificação dos metais catalíticos. ....	39
<b>TABELA VIII</b> - Alguns estudos de CTH realizados com óleos vegetais e ésteres de ácidos graxos. ....	43
<b>TABELA IX</b> -Exemplos de Lipases comerciais. ....	49
<b>TABELA X</b> -Características físico-químicas dos ésteres etílicos de várias espécies vegetais produzidos no Brasil. ....	54
<b>TABELA XI</b> -Bandas na região do infravermelho observadas para ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa saturados. ....	67
<b>TABELA XII</b> -Especificação dos principais reagentes e solventes usados nos experimentos de extração, caracterização e transformação. ....	78
<b>TABELA XIII</b> -Especificação dos padrões usados nas análises cromatográficas. ....	79
<b>TABELA XIV</b> -Especificação dos gases usados nos experimentos. ....	80
<b>TABELA XV</b> -Identificação das amostras de semente utilizadas. ....	82
<b>TABELA XVI</b> -Planejamento experimental (fatorial 2 <sup>2</sup> ). ....	86
<b>TABELA XVII</b> -Experimentos com sementes e torta utilizando CO <sub>2</sub> a alta pressão. ....	86
<b>TABELA XVIII</b> -Fator de correção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos. ....	95
<b>TABELA XIX</b> -..Condições experimentais empregadas na alcoólise enzimática do óleo de rícino. ....	105
<b>TABELA XX</b> -Rendimento da extração por prensagem seguida de extração por solvente comparada à extração por solvente diretamente das sementes. ....	112
<b>TABELA XXI</b> -Rendimento em óleo dos cultivares analisados. ....	113
<b>TABELA XXII</b> -Rendimento em óleo das sementes dos cultivares T1 e C1, provenientes do estudo de épocas de plantio. ....	114
<b>TABELA XXIII</b> -Índices físico-químicos do óleo extraído das amostras provenientes dos estudos agrônômicos. ....	116

<b>TABELA XXIV</b> -Proporção média de ácidos graxos encontrados nas amostras de óleo de rícino analisadas. ....	119
<b>TABELA XXV</b> -Componentes minoritários identificados no óleo de rícino.....	122
<b>TABELA XXVI</b> -Especificação das bandas de espectros no infravermelho identificadas no óleo de rícino. ....	129
<b>TABELA XXVII</b> -Rendimento de extração dos estudos 1 a 5 da extração com CO <sub>2</sub> a alta pressão.....	131
<b>TABELA XXVIII</b> -Número de insaturações e de hidroxilas dos acilgliceróis dos extratos obtidos por CO <sub>2</sub> a alta pressão.....	143
<b>TABELA XXIX</b> -Produtos das reações realizadas com limoneno como doador e a temperaturas diferentes. ....	146
<b>TABELA XXX</b> -Grau de hidrogenação e teor de OH remanescente obtidos em reação realizada em triplicada a 170 <sup>o</sup> C e 178 <sup>o</sup> C.....	147
<b>TABELA XXXI</b> -Proporção de ácidos graxos encontrados nas amostras obtidas de reações realizadas em diferentes tempos.....	148
<b>TABELA XXXII</b> -Produtos das reações realizadas em diferentes concentrações de Pd/C.....	150
<b>TABELA XXXIII</b> -Compostos voláteis identificados no meio reacional por SPME/GC/MSD... ..	154
<b>TABELA XXXIV</b> -Proporção de ácidos graxos encontrados nos produtos de reações realizadas com diferentes concentrações de Pd/C e cicloexeno como doador de hidrogênio.....	162
<b>TABELA XXXV</b> -Conversão e seletividade na hidrogenação do óleo de rícino, com relação à concentração de ácido ricinoléico.....	169
<b>TABELA XXXVI</b> -Rendimento da etanolise enzimática do óleo de rícino realizada com as enzimas <i>Lipozyme IM</i> .....	180
<b>TABELA XXXVII</b> -Rendimento da etanolise enzimática do óleo de rícino realizada com as enzimas <i>Novozym 435</i> .....	182
<b>TABELA XXXVIII</b> -Rendimento das reações do estudo E9 realizadas em triplicata com as enzimas <i>Lipozyme IM</i> e <i>Novozym 435</i> .....	183

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>1</b>
<b>1 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>7</b>
1.1 MAMONA .....	8
1.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS.....	12
1.3 EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO-SFE .....	14
1.4 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO .....	20
1.5 APLICAÇÕES DO ÓLEO DE RÍCINO.....	21
1.6 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO.....	23
1.7 TRANSFORMAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS .....	26
1.7.1 TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO .....	30
1.8 HIDROGENAÇÃO.....	34
1.8.1 CATALISADORES.....	38
1.8.2 TEMPERATURA E AGITAÇÃO .....	41
1.9 HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA POR TRANSFERÊNCIA.....	42
1.9.1 SOLVENTES DOADORES.....	44
1.10 BIOTRANSFORMAÇÃO ENZIMÁTICA.....	47
1.11 ALCOÓLISE ENZIMÁTICA.....	50
1.11.1 ETANÓLISE ENZIMÁTICA.....	53
1.11.2 BIODIESEL.....	55
1.12 MÉTODOS INSTRUMENTAIS APLICADOS À OLEOQUÍMICA.....	58
1.12.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS.....	59
1.12.1.1 CROMATOGRAFIA GASOSA .....	59
1.12.1.2 CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE MASSAS .....	63
1.12.1.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA.....	65
1.12.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	66
1.12.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C.....	68
1.13 TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO .....	70
1.13.1 MÉTODO DE ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS .....	71
1.13.2 MÉTODOS DE REGRESSÃO MULTIVARIADA .....	73

<b>2</b>	<b>PARTE EXPERIMENTAL .....</b>	<b>76</b>
2.1	DELINEAMENTO DA PESQUISA .....	77
2.2	SOLVENTES, REAGENTES E GASES .....	78
2.3	EXTRAÇÃO.....	80
2.3.1	AMOSTRAGEM.....	81
2.3.2	EXTRAÇÃO POR Prensagem.....	83
2.3.3	EXTRAÇÃO POR SOLVENTE.....	84
2.3.4	EXTRAÇÃO POR CO <sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO.....	85
2.3.4.1	SEPARAÇÃO EM COLUNA .....	88
2.4	ANÁLISE QUANTITATIVA CLÁSSICA DE ÓLEOS VEGETAIS .....	89
2.4.1	ÍNDICE DE REFRAÇÃO - AOCS (Tp 1a-64) .....	90
2.4.2	PESO ESPECÍFICO - AOCS (To 1b-64) .....	90
2.4.3	ÍNDICE DE PERÓXIDO - AOCS (Cd 8-53) .....	90
2.4.4	ÍNDICE DE SAPONIFICÁVEIS - AOCS (Cd 3-25) .....	91
2.4.5	ÍNDICE DE ACIDEZ - AOCS (Cd 3d-63) .....	92
2.4.6	ÍNDICE ESPECTROFOTOMÉTRICO DE COR – AOCS (Cc 13c- 50) .....	92
2.4.7	ÍNDICE DE INSAPONIFICAÇÃO - AOCS (Ca 6a-40).....	93
2.5	MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE.....	93
2.5.1	CROMATOGRAFIA GASOSA.....	93
2.5.1.1	ÁCIDOS GRAXOS – AOCS (Ce 1c-89).....	94
2.5.1.2	INSAPONIFICÁVEIS.....	96
2.5.1.3	ÉSTERES ETÍLICOS .....	97
2.5.1.4	CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC.....	97
2.5.2	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C.....	98
2.5.3	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO - IR.....	99
2.6	HIDROGENAÇÃO.....	100
2.6.1	PROCEDIMENTO DA CTH COM LIMONENO COMO SOLVENTE DOADOR DE HIDROGÊNIO .....	100
2.6.2	PROCEDIMENTO DA CTH COM CICLOEXENO COMO SOLVENTE DOADOR DE HIDROGÊNIO.....	102
2.6.2.1	SEPARAÇÃO DOS PRODUTOS DA CTH.....	102
2.6.3	PROCEDIMENTO DA HIDROGENAÇÃO COM H <sub>2</sub> (g).....	103
2.6.3.1	SEPARAÇÃO DOS PRODUTOS DA HIDROGENAÇÃO COM H <sub>2</sub> (g) .....	104
2.7	ETANÓLISE ENZIMÁTICA .....	104



2.8	TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO .....	108
2.9	MINIMIZAÇÃO DE RESÍDUOS.....	108
<b>3</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>110</b>
3.1	EXTRAÇÃO.....	111
3.2	EXTRAÇÃO POR Prensagem e por solvente .....	111
3.2.1	RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO.....	111
3.2.2	ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA CLÁSSICA.....	115
3.2.3	ANÁLISE DOS ÁCIDOS GRAXOS.....	118
3.2.4	ANÁLISE DOS COMPONENTES MINORITÁRIOS.....	120
3.2.5	ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC..	124
3.2.6	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C.....	126
3.2.7	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	128
3.2.8	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE EXTRAÇÃO POR Prensagem e EXTRAÇÃO POR SOLVENTE.....	130
3.3	EXTRAÇÃO POR CO <sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO .....	130
3.3.1	RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO.....	131
3.3.2	CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS OBTIDOS POR CO <sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO .	134
3.3.2.1	ANÁLISE CROMATOGRÁFICA – GC-MSD .....	134
3.3.2.2	ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO.....	138
3.3.2.3	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup> H.....	140
3.3.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A EXTRAÇÃO POR CO <sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO	144
3.4	TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO.....	145
3.4.1	HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA POR TRANSFERÊNCIA DE HIDROGÊNIO - CTH .....	145
3.4.1.1	SOLVENTE DOADOR - LIMONENO.....	145
3.4.1.1.1	PRODUTOS DE DESPROPORCIONAÇÃO DO LIMONENO.....	152
3.4.1.2	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DA CTH COM LIMONENO COMO DOADOR DE HIDROGÊNIO.....	155
3.4.1.2.1	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup> H E <sup>13</sup> C.....	155
3.4.1.2.2	ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO.....	157
3.4.1.2.3	CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS -GC-MSD .....	159
3.4.1.3	SOLVENTE DOADOR - CICLOEXENO .....	162
3.4.1.4	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS OBTIDOS COM CICLOEXENO COMO DOADOR .....	163

3.4.2	HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA COM H <sub>2</sub> (g).....	165
3.4.3	CONVERSÃO E SELETIVIDADE NA HIDROGENAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO .....	168
3.4.4	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A CTH DO ÓLEO DE RÍCINO .....	170
3.5	ALCOÓLISE ENZIMÁTICA.....	171
3.5.1	CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DE ALCOÓLISE ENZIMÁTICA.....	171
3.5.2	RENDIMENTO DA ETANÓLISE ENZIMÁTICA .....	180
3.5.3	CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A ETANÓLISE DO ÓLEO DE RÍCINO .....	186
	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>187</b>
	<b>TRABALHOS FUTUROS .....</b>	<b>189</b>
	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>193</b>
	<b>ANEXOS.....</b>	<b>206</b>
	<b>ANEXO A – FRUTO E SEMENTE DA MAMONA .....</b>	<b>207</b>
	<b>ANEXO B – LISTAGEM DOS PRINCIPAIS PRODUTOS OBTIDOS DO ÓLEO DE RÍCINO.....</b>	<b>208</b>
	<b>ANEXO C – FOTOGRAFIAS DO PLANTIO DE MAMONA NO VALE DO RIO PARDO.....</b>	<b>209</b>
	<b>ANEXO D - FOTOGRAFIAS DA ETAPA DE EXTRAÇÃO POR Prensagem .....</b>	<b>210</b>
	<b>ANEXO E – DIAGRAMA DE DEPENDÊNCIA DA DENSIDADE DE CO<sub>2</sub> COM P e T.....</b>	<b>211</b>
	<b>ANEXO F – ESPECTROS DE MASSAS DOS COMPOSTOS EXTRAÍDOS POR CO<sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO .....</b>	<b>212</b>

## *INTRODUÇÃO*



No Brasil a mamona (*Ricinus communis* L.) é utilizada desde a era colonial, quando dela era extraído o óleo para lubrificar os inúmeros engenhos de cana de açúcar, sendo conhecida por diversas denominações: mamoneira, rícino, carrapateira, palma-crist e bafureira.

Com o incremento das tecnologias, o óleo começou a receber maior importância econômica, fato este demonstrado pela retomada dos Estados Unidos a cultura desta planta, haja vista que este país é o maior importador do óleo<sup>1</sup>.

Segundo o USDA (*United States Department of Agriculture*), na safra 1999/00 a produção mundial de mamona foi de 1,32 milhões de toneladas de grãos. Os maiores produtores mundiais foram a Índia, com 65%; a China, com 22%, e o Brasil com pouco mais de 6%. Para a safra 2000/01 a previsão era de uma produção de 1,59 milhões de toneladas. De acordo com os dados da CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento), a estimativa da produção nacional na safra 2000/01 foi de 107,6 mil toneladas de grãos, sendo 90% do Estado da Bahia, por produtores de pequeno e médio porte.

De modo geral, o consumo mundial de mamona está bem próximo da produção, sendo a Índia, além de maior produtor mundial, o maior exportador, atendendo à demanda de vários países.

A sua extraordinária capacidade de adaptação, a multiplicidade de aplicações industriais para o seu óleo, o valor da sua torta como fertilizante e suplemento protéico e a tendência de preços crescentes colocam a mamona entre as oleaginosas

mais importantes.

Frente à importância desta cultura, justifica-se a necessidade de se fazer uma avaliação da mamona com relação à adaptação de suas variedades aos sistemas de produção e às condições climáticas da região, assim como a avaliação do rendimento destas variedades, tanto em quantidade como em qualidade, do óleo produzido.

No que tange a este trabalho, houve a necessidade de alavancar estudos que explorassem as qualidades deste óleo e potencialidades de transformação.

Assim os objetivos que constituíram a proposta foram investigar aspectos com relação à extração e transformação do óleo de rícino. A extração seria realizada por prensagem a frio, por extração contínua com solvente e por CO<sub>2</sub> a alta pressão, diretamente da semente e/ou da torta residual do processo de prensagem.

Deste modo o trabalho envolveria os métodos clássicos de extração e métodos inovadores, buscando identificar a qualidade do óleo obtido nos diferentes processos e dar maior aplicabilidade à torta residual.

Quanto à transformação do óleo, foi proposto avaliar o desempenho da hidrogenação catalítica por transferência de hidrogênio (CTH) e da etanólise enzimática.

A CTH foi planejada empregando Pd/C como sistema catalítico e o limoneno e cicloexeno como solventes doadores de hidrogênio, de modo que atribuísse ao óleo um maior valor agregado e envolvesse matérias-primas de fácil aquisição, como o limoneno que pode ser extraído de cascas de frutas cítricas por empresas da região.

Cabe destacar que, na inserção da CTH na hidrogenação de óleos vegetais, como o de rícino, tem-se uma alternativa mais segura, pois elimina a necessidade de reatores especiais, para altas pressões e temperaturas, necessários quando se utiliza

o  $H_2(g)$  como fonte de hidrogênio.

Já na etanólise enzimática, visando à produção de biodiesel a partir do óleo de rícino, foi proposto o emprego de enzimas como biocatalisadores das reações.

Na proposta inicial e no desenvolvimento do trabalho, estava inerente a otimização de metodologias de análise, tendo em vista o domínio das técnicas e a confiabilidade dos resultados.

Por outro lado, buscou-se a diferenciação de processos e produtos com a finalidade de empregar métodos e técnicas limpas em conformidade com as tendências atuais de redução de resíduos e efluentes de processos.

A mamona, neste aspecto é fonte de matéria-prima para vários empreendimentos, razão pela qual foi apelidada de “*petróleo verde*”, pois possui propriedades físicas e químicas que garantem aplicabilidade tecnológica nos mais variados setores da indústria.

Apesar do óleo desta cultura ser conhecido e empregado em várias atividades industriais, transformado ou não, são necessários esforços para inserir na região e no estado tecnologias adaptadas às condições existentes que levem a processos extrativos eficientes, inovadores e que incrementem o valor agregado ao óleo.

Da mesma forma, a possibilidade de utilizar subprodutos do óleo de rícino traz um ganho para a sociedade, na medida em que estes substituem os subprodutos do petróleo.

Óleos e gorduras são fontes renováveis com potencialidade para produção de combustíveis e matéria de partida para a indústria química.

Processos biotecnológicos<sup>2,3</sup> reduzem o impacto ambiental da disposição de efluentes e afetam a competitividade de diferentes óleos vegetais e derivados e melhoram as expectativas de serem utilizados pela indústria. Isto se deve:

- à melhoria genética da cultura, modificando suas propriedades como, aumento à resistência ao stress biótico e abiótico, adaptação a novos ambientes, aumento do teor de óleo, modificação nos tipos e nas proporções dos ácidos graxos presentes no óleo, extensão dos processos de reprodução e outros;
- à aplicação de tecnologias enzimáticas na extração e refino de óleos de sementes;
- ao emprego de enzimas como biocatalisadores, com destaque às lipases.

Todavia, há problemas com relação aos processos biotecnológicos de extração e transformação de óleos, como o alto custo das enzimas, a necessidade de selecionar enzimas específicas, qualidade da torta produzida e a complexidade tecnológica dos processos bioquímicos.

Neste contexto, o presente trabalho investigou de maneira exploratória a extração, caracterização e transformação do óleo de rícino. As atividades experimentais foram realizadas na Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS, na Universidade de Santa Cruz do Sul - UNISC e Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Campus Erechim – URI.

Além disso, tendo em vista o caráter exploratório do trabalho, também foi de interesse descrever as tendências e os caminhos relacionados à *ricinoquímica*.

Sob esta visão, a tese foi redigida em três grandes partes, subdividas com relação à extração, transformação química e biotransformação.

No primeiro capítulo, apresenta-se o estado da arte a respeito dos assuntos relacionados à extração e transformação do óleo de rícino, bem como, a fundamentação de métodos instrumentais e de tratamento de dados que foram empregados para obtenção e discussão dos resultados experimentais.

Na continuidade, foram descritas as técnicas e metodologias empregadas

para a extração, caracterização, transformação química, biotransformação e tratamentos dos dados. Neste segundo capítulo, delinea-se a pesquisa realizada.

O terceiro capítulo são apresentados e discutidos os resultados experimentais, que permitiram inferir e compreender aspectos determinantes para concluir e sugerir trabalhos futuros.



## **1 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**



## 1.1 MAMONA

Conhecida por ser uma planta que se desenvolve de forma nativa em diversas regiões do Brasil, a mamoneira vem conquistando espaços no ramo oleoquímico, gerando indústrias de primeira e segunda gerações, que caracterizam a ricinoquímica.

A mamona (*Ricinus communis* L.) é uma euforbiácea, cuja origem não é bem definida, sendo dada ora como asiática, ora africana, e até mesmo como planta nativa da América. De qualquer forma, são citados relatos sobre esta planta desde a mais remota antiguidade. No Egito antigo, a mamona já era apreciada como planta milagrosa e na Índia era utilizada para os mais diversos fins<sup>4</sup>.

Em 1970, na Cartilha do Agricultor da Secretaria da Agricultura do Estado do RS, já era veiculado que esta planta desenvolve-se bem em climas tropicais, quentes e úmidos, porém, vive e produz satisfatoriamente nos climas temperados. Além disso, não era considerada uma planta exigente em relação ao trato do solo, mas este fato normalmente levava a diminuir o rendimento.

Trata-se de uma planta que se apresenta na forma de arbusto, com sistema radicular que se estende lateral e profundamente; e tem uma parte aérea ramificada, de coloração verde avermelhada, podendo variar de tonalidade de acordo com a variedade. As folhas são lobadas, com formas variadas; sua inflorescência apresenta flores femininas, na parte superior, e masculinas, na parte inferior. O fruto é uma

cápsula tricoca com espinhos (ANEXO A). Raramente apresentam 1, 2, 4 ou 5 cocas, abrindo-se em cocas bivalves; possui semente lisa, carunculada, oval, de diferentes tamanhos e coloração e contém albúmen abundante e oleoso<sup>5-6</sup>.

Esta planta apresenta estatura muito variável, podendo atingir 5 a 6 m em climas e solos propícios ao seu plantio, em caso de uma variedade alta, ou a aproximadamente 1 m de altura nas variedades baixas. Como a estatura, também varia o seu porte, que pode ser forte ou frágil, ereto ou pendente.

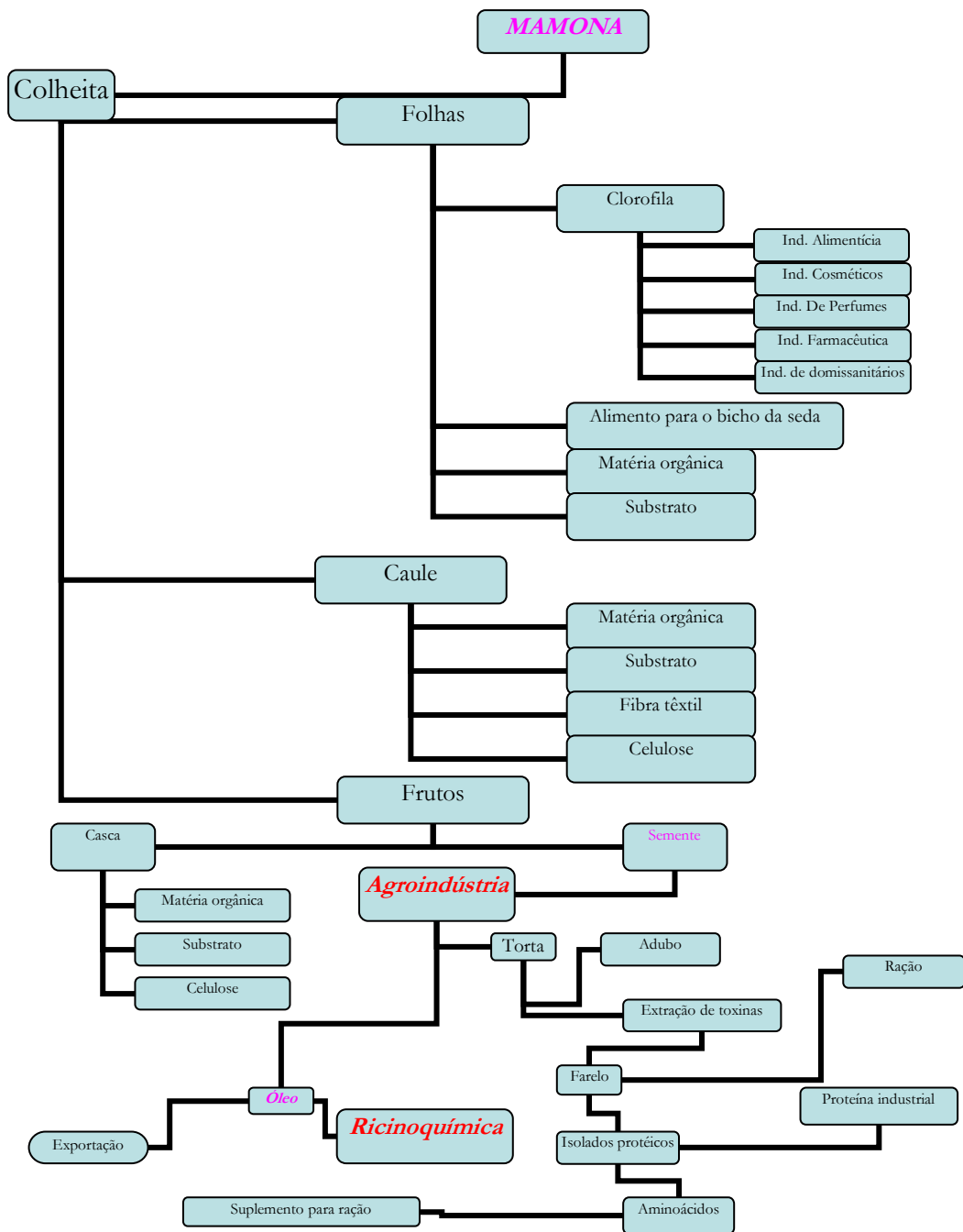
Não se notam diferenças nítidas nas inúmeras variedades. Às vezes, ao meio da inflorescência, aparecem ramificações nas quais a flor terminal é feminina e as outras masculinas; outras vezes, aparecem flores hermafroditas, principalmente a flor terminal do cacho<sup>7</sup>.

Da semente, obtém-se o óleo responsável por grande parte das aplicações da mamona (Figura 1). O óleo corresponde a cerca de 48,6% (m/m) do total da semente<sup>8</sup>, como mostra a Tabela I.

**TABELA I -** Composição química média das sementes de mamona.

<b>Composição química</b>	<b>% (m/m)</b>
Óleo	48,6
Água	5,5
Proteínas	17,9
Carboidratos	13,0
Fibras	12,5
cinzas	2,5

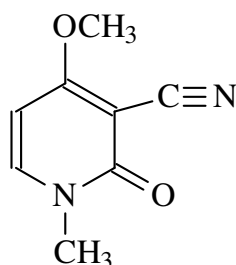
*Fonte: JUNIOR, 1986*



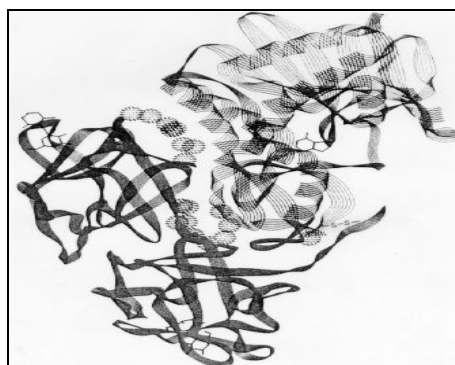
**Figura 1:** Esquema de utilização da mamoneira<sup>9</sup>.

As sementes de mamona são venenosas às pessoas, animais e insetos. Os sintomas são anorexia, diarreia, fraqueza, apatia e, eventualmente, a morte. Isto se deve à presença da proteína tóxica ricina<sup>10,11,12</sup>, considerada uma potente citotoxina, na proporção de 1,5%<sup>13</sup>, e ao alcalóide ricinina, um agente convulsivo e inibidor da cadeia respiratória mitocondrial (Figura 2)<sup>14-15</sup>.

A toxina RCA – *Ricinus communis aglutinina 60* (Figura 3)<sup>16</sup>, também é nociva ao organismo humano, apesar de não penetrar na parede intestinal. Os danos da RCA serão causados por injeção na corrente sanguínea, devido à sua capacidade de aglutinar as células vermelhas do sangue, levando à hemólise. Publicações sobre a pesquisa de toxinas na casca do fruto de *Ricinus communis* L., mostram que esta parte da planta é quatro vezes mais tóxica do que as folhas. Devido aos sinais de intoxicação observados, foram investigados os compostos presentes no pericarpo que estimulam o Sistema Nervoso Central. A ricinina foi comprovada como agente convulsivo e estimulante da memória<sup>15,17</sup>.



**Figura 2:** Fórmula estrutural da ricinina.



**Figura 3:** Estrutura tridimensional da ricina, obtida por cristalografia de Raios X.

## 1.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

A extração de óleos vegetais constitui-se num ramo importante da tecnologia das matérias graxas. Dentre os principais objetivos da extração estão: a obtenção do óleo sem alterações e impurezas; o máximo rendimento de acordo com a economia do processo e a obtenção de uma torta (ou farelo) de máxima qualidade.

Realiza-se a extração com o fim de isolar o óleo da matriz que, no caso da maioria dos óleos vegetais, é a semente. Por meio de prensas hidráulicas são obtidos óleos de primeira qualidade e pouco corados. Já no emprego de solventes orgânicos, com temperaturas e pressões maiores obtêm-se óleos mais escuros, entretanto com maior rendimento<sup>6</sup>.

A extração de óleos também se dá pela transferência da matéria oleosa de uma fase sólida para uma fase líquida, por solubilização.

Em sistemas modernos, obtêm-se, ao final do processo, o óleo, a torta e o solvente separado. Prensas tipo “*Expeller*” ou de rosca helicoidal são exemplos de extração contínua, responsáveis pelas remoções parciais de óleo, sendo completado pela extração com solvente. Por essa razão, denomina-se “processo misto”<sup>18</sup>.

Os solventes mais empregados na extração de óleos vegetais são frações leves de petróleo. Em maior escala, é utilizado o hexano com ponto de ebulição próximo a 70° C. Também são utilizados o pentano (30° – 35° C), heptano (87° – 97° C) e o octano (100° – 140° C)<sup>19</sup>.

Quanto ao emprego do hexano, apesar de sua eficiência na extração, composição homogênea e estreita faixa de temperatura de ebulição - além de ser imiscível em água com a qual não forma azeótropos -, ressalta-se a necessidade de substituí-lo, uma vez que apresenta algumas desvantagens, tais como a alta

inflamabilidade, custo e toxicidade<sup>a</sup>. Já o uso dos outros solventes como o isopropanol oferece algumas vantagens industriais<sup>20</sup>.

A extração por solvente pode ser considerada em duas etapas: solubilização, rápida e fácil, e difusão da mistura de óleo e solventes por meio da parede celular semipermeável. A difusão pode ser facilitada quando as partículas resultantes da laminação forem as menores possíveis e o processo ocorrer na temperatura próxima ao ponto de ebulição do solvente, restando, assim, apenas 0,5 a 0,6% de óleo na torta<sup>26</sup>.

Atualmente, a extração de óleos vegetais também pode ser realizada por outros métodos como a extração por fluidos supercríticos<sup>21,22,23,24</sup>.

Os óleos crus que possuem níveis altos de fosfatídios são degomados com uma quantidade limitada de água. A seguir são centrifugados, refinados para retirar os ácidos graxos livres e outras impurezas. O refino é realizado pelo tratamento do óleo com uma solução alcalina. A etapa seguinte é o branqueamento, clarificação ou descoloração, realizado com materiais adsorventes.

Após refino e clarificação, geralmente é realizada destilação por arraste de vapor visando à desodorização do óleo. Nesta etapa, eliminam-se substâncias mais voláteis.

No fracionamento, a indústria emprega, entre outros métodos, a winterização, que corresponde à cristalização seletiva a seco, seguida de filtração. No fracionamento por solvente, o processo de cristalização dos acilgliceróis dissolvidos é seletivo a diferentes temperaturas.<sup>25</sup>

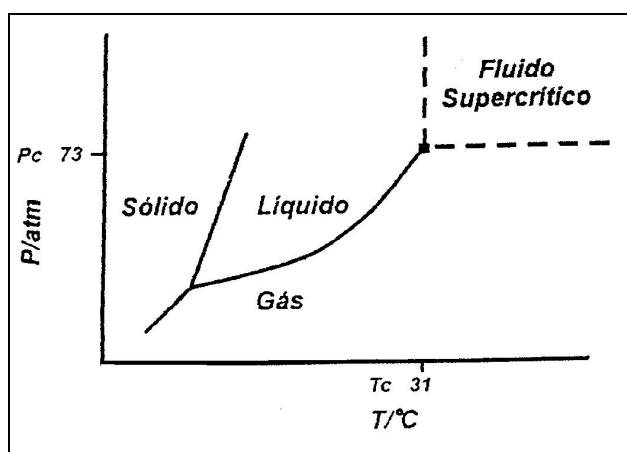
---

<sup>a</sup> The Merck Chemical Database – CD Rom 2001/1: O hexano apresenta sintomas de irritação no trato respiratório e no contato com a pele, entre outros. Após exposição por longo tempo, causa desordem no Sistema Nervoso Central e paralisias.

### 1.3 EXTRAÇÃO POR FLUIDO SUPERCRÍTICO-SFE

A SFE é uma alternativa promissora aos métodos convencionais de extração. Fluidos supercríticos exibem propriedades físico-químicas intermediárias às de um líquido e um gás, aumentando sua atuação como solvente. Destaca-se que o fluido apresenta densidade relativamente alta, com melhor poder de solvência, enquanto sua capacidade de difusão alta e viscosidade baixa são responsáveis pela penetrabilidade na matriz da amostra<sup>26</sup>.

Quando um composto é confinado em um espaço determinado, a uma determinada condição de temperatura e pressão, gás e líquido estão em equilíbrio entre si. Aquecendo e aumentando a pressão do sistema, as propriedades intrínsecas de ambos convergem para um mesmo ponto até serem idênticas, como: a densidade, viscosidade, índice de refração e condutividade térmica. Este é denominado ponto crítico. A partir dele o líquido ou o gás torna-se um fluido supercrítico, no qual acaba a interface gás/líquido. Esta região pode ser visualizada no diagrama de equilíbrio de fases do CO<sub>2</sub> apresentado na Figura 4.



Fonte Carrilho et al, 2001.

**Figura 4:** Diagrama de fases para o CO<sub>2</sub>.

Em particular, o CO<sub>2</sub> supercrítico é o mais utilizado por apresentar, em



determinada faixa de pressão e temperatura, acima do ponto crítico, densidade semelhante à de um líquido, baixa viscosidade, difusão de um gás e não deixar resíduos.

Para satisfazer a situação de fluido supercrítico, a pressão e a temperatura devem ser superiores a temperatura crítica ( $T_c$ ) e pressão crítica ( $P_c$ ).

Na Tabela II são apresentados alguns fluidos com suas densidades nas condições de  $P_c$  e  $T_c$ . Entre estes compostos, destaca-se o  $CO_2$ ,  $N_2O$  e  $SF_6$  com  $T_c$  mais baixa, sendo que o  $SF_6$  apresenta a menor  $P_c$  e maior densidade.

A escolha entre estes fluidos ou outros não citados na Tabela II, deve considerar, além das propriedades, a polaridade do analito a ser extraído, as condições mais amenas de  $T$  e  $P$  e a menor toxicidade.

**TABELA II** - Parâmetros físico-químicos de alguns fluidos supercríticos.

Fluido	$T_c$ ( $^{\circ}C$ )	$P_c$ (atm)	$\rho_c$ (g mL $^{-1}$ )
$CO_2$	31,3	72,9	0,47
$N_2O$	36,5	71,7	0,45
$C_5H_{12}$	196,6	33,3	0,23
$SF_6$	45,5	37,1	0,74
$CH_3OH$	240,5	78,9	0,27
$C_3H_7OH$	235,3	47,0	0,27

*Fonte Carrilho et al, 2001.*

As propriedades de um fluido supercrítico, em determinadas regiões de  $P$  e  $T$ , como densidade ( $\rho$ ), difusibilidade ( $D$ ) e viscosidade ( $\eta$ ) são intermediárias às do líquido e do gás. Todavia, a densidade do fluido é próxima à dos líquidos, dando maior poder de solvência devido à alta compressibilidade. Assim, o controle da pressão é um parâmetro importante para melhorar a eficiência da extração (Tabela III).

Na realidade, os estudos de extração com fluidos supercríticos muitas vezes não se restringem apenas às condições que satisfazem um mínimo de pressão e temperatura necessários para estarem no estado supercrítico. Como exemplo cita-se o dióxido de carbono.

**TABELA III** - Comparação de propriedades de gás, líquido e fluido supercrítico.

<b>Propriedade</b>	<b>Unidade</b>	<b>Gás</b>	<b>Líquido</b>	<b>Fluido supercrítico</b>
Densidade ( $\rho$ )	g mL <sup>-1</sup>	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-3</sup>	≅ 1	0,2/0,9
Difusibilidade (D)	cm <sup>2</sup> s <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup> / 1	<10 <sup>-5</sup>	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-3</sup>
Viscosidade ( $\eta$ )	poise	≅ 10 <sup>-4</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-4</sup> /10 <sup>-3</sup>

*Fonte Carrilho et al, 2001.*

Dependendo das matrizes estudadas, torna-se necessário uma avaliação experimental do desempenho na extração com dióxido de carbono a diferentes densidades, buscando uma maior eficiência ou seletividade. Assim, genericamente, diz-se que os experimentos foram realizados com CO<sub>2</sub> a altas pressões, como foi utilizado por Rodrigues<sup>27</sup> e neste trabalho.

Por outro lado, a transferência de massa é mais rápida em fluidos supercríticos que nos respectivos líquidos. Isto significa uma maior eficiência por unidade de tempo.

Comparativamente a outras técnicas, a SFE, dependendo do solvente, protege os extratos da degradação térmica, usa solventes voláteis atóxicos e evita a permanência de resíduos de solvente no extrato final<sup>28</sup>. Em eficiência, a SFE demonstrou ser similar à extração por solvente realizada em Extrator Soxhlet quando a matriz empregada foi a semente de uva. Ressalta-se porém, que a qualidade do extrato do sistema de CO<sub>2</sub> supercrítico foi superior<sup>29</sup>.

Com base nas definições de fluido supercrítico poder-se-ia afirmar que qualquer líquido estaria apto a ser submetido a condições supercríticas; entretanto,

é preciso fazer algumas considerações com relação ao poder de solvência, seletividade, estabilidade térmica do solvente e do soluto nas condições supercríticas, além dos problemas mecânicos ocasionados pelo aumento da pressão<sup>30</sup>.

Outra variável importante no processo é o tamanho das partículas da amostra sólida<sup>23</sup>. Assim como na prensagem e por solvente, é necessária a laminação ou trituração das sementes para a diminuição da granulometria das partículas de grãos, facilitando a penetrabilidade do fluido nas partículas.

A temperatura empregada nestes processos foi de 40 a 80°C, sendo que os triacilgliceróis presentes nos óleos vegetais apresentam uma apreciável solubilidade em CO<sub>2</sub> supercrítico a 40°C com uma pressão de 200 bar<sup>24</sup>.

Dentre as aplicações da SFE, destaca-se o emprego na extração de contaminantes ambientais<sup>31</sup>, na extração de produtos naturais<sup>32</sup> e na área de alimentos<sup>33</sup>. Também tem sido empregada para produção de bases para cosméticos a partir do resíduo de cervejarias<sup>34</sup> e extração de princípios ativos de plantas<sup>35,36,37,38</sup>.

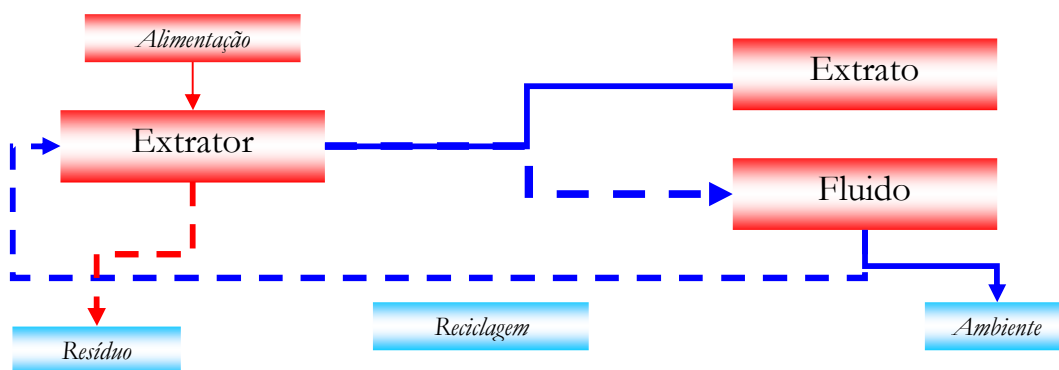
Os estudos já realizados com extração por CO<sub>2</sub> supercrítico de óleos vegetais referem-se à extração do óleo de soja e colza<sup>39</sup>, óleo de amendoim<sup>40</sup>, oliva<sup>41-42</sup>, girassol<sup>43</sup>, algodão<sup>44</sup>, arroz<sup>45</sup>.

A SFE de triglicerídeos do óleo de soja e de ésteres graxos do óleo de Jojoba já foram publicados por Stahl *et al*<sup>46</sup>. Eles estabeleceram o efeito dos fatores como temperatura, pressão, granulometria e fluxo do fluido na velocidade de extração.

Uma descrição geral do equipamento pode ser realizada com base no esquema da Figura 5. A mistura a ser separada entra em contato com o fluido dentro de um extrator e a extração pode ser realizada de forma contínua ou em batelada. Na etapa seguinte, o extrato é separado do solvente pela redução de temperatura e pressão. O solvente pode ser isolado para ser reutilizado. Alguns

sistemas são *home made*, ou seja, são construídos pelos próprios usuários, visando a extração em escala laboratorial.

Estes equipamentos apresentam como vantagem, se comparados aos sistemas comercializados, o baixo custo e capacidade de adaptação às condições necessárias à pesquisa<sup>47</sup>.

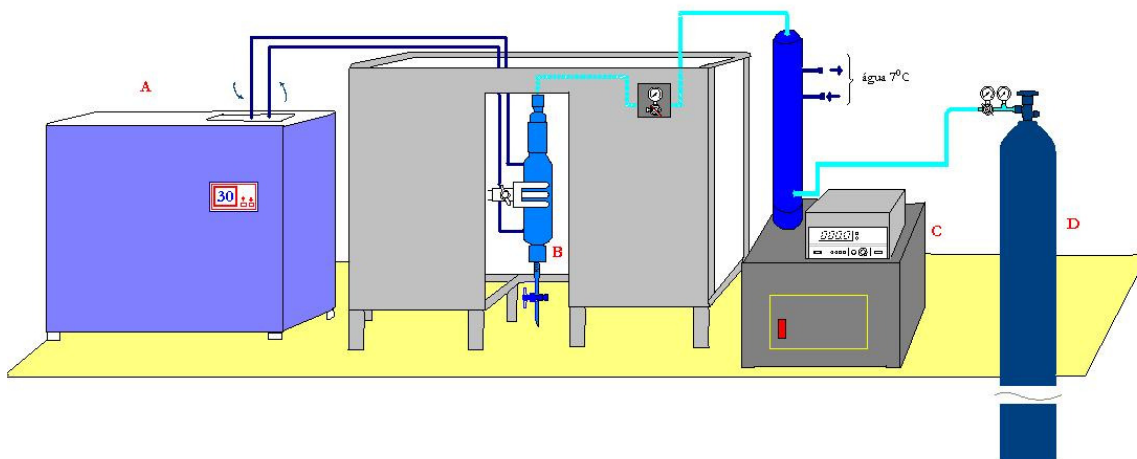


**Figura 5:** Esquema da SFE

Um sistema *home made* que apresenta controle de pressão e temperatura pode ser observado na Figura 6. Nesta Figura, em A tem-se um banho termostático para controle da temperatura do reator B e uma bomba tipo seringa em C, que controla a pressão do sistema durante a extração e que é alimentada pelo CO<sub>2</sub> do cilindro em D.

Nos sistemas comerciais, muitas vezes há um controle mais preciso de parâmetros e a possibilidade de recirculação do solvente, facilitando o enriquecimento do analito e o fracionamento<sup>48</sup>, entre outras vantagens<sup>49</sup>.

Os custos de produção são significativamente influenciados pela energia que estes processos exigem. Para fins de viabilização do custo da SFE em processos industriais, são necessárias algumas otimizações nas futuras plantas de extração<sup>50</sup>.



**Figura 6:** Sistema *home made* de extração por CO<sub>2</sub> supercrítico.

Cabe destacar que o emprego de CO<sub>2</sub> supercrítico na extração de óleos vegetais tem reduzido o teor de ácidos graxos livres, principalmente com um aumento da pressão de extração, como ocorreu na extração de óleo de sementes de *Veronia galamensis*, que apresenta ácido vernólico livre. Neste caso, houve a redução de 69 para 8 mg de ácidos livres por grama de óleo<sup>51</sup>.

Para melhorar a eficiência na extração, modificadores ou co-solventes podem ser misturados ao fluido (1 a 5%). Como o CO<sub>2</sub> é empregado na extração de analitos apolares, há a necessidade de introduzir no fluido alguns co-solventes polares, como o metanol para melhorar a extração de substâncias polares<sup>52</sup>. Outros co-solventes citados por Jeong<sup>53</sup> são o ácido acético, THF e tolueno.

Os fluidos supercríticos apresentam outras aplicações, destacando-se na área da química analítica e biotecnologia, seja como fase móvel na cromatografia por fluido supercrítico<sup>22</sup> ou como solventes para reações enzimáticas<sup>54-55</sup>.

No que se refere à proposta deste trabalho, verificou-se que estudos em nível laboratorial e/ou industrial de extração por CO<sub>2</sub> supercrítico de componentes da semente de *Ricinus communis* L. e da torta residual do processo de extração do óleo de rícino não têm sido relatados.

## 1.4 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO

Industrialmente, o óleo de rícino pode ser extraído da semente completa ou da baga (semente mecanicamente descascada). O método utilizado para extrair o óleo pode ser prensagem, a frio ou a quente, ou extração por solvente. A semente passa por uma pré-limpeza e segue para o aquecimento de vários estágios, em um cozinhador ou chaleira. É prensado e degomado. A degomagem é realizada com água ou vapor d'água, chegando a elevar a umidade do extrato a 45%.

Nestas condições, o óleo aumenta o volume e é imediatamente filtrado ou passa por uma centrífuga de volume (*super decanter*). A borra obtida na degomagem é misturada à torta que vai à extração por solvente, de onde se obtêm o óleo final e o farelo.

O óleo obtido da prensagem, então, é clarificado com adsorventes e seco. Nesta operação é misturado com o óleo proveniente da extração por solvente. Todas as terras utilizadas na clarificação com cerca de 30% de óleo seguem com a torta para a extração por solvente<sup>56</sup>.

O hexano também é empregado na extração do óleo de rícino, satisfazendo uma série de exigências de um solvente apropriado e dissolvendo com facilidade o óleo sem agir sobre os outros componentes da matéria oleaginosa<sup>57</sup>. O etanol tem sido avaliado em substituição ao hexano para extração do óleo de rícino. Por ser de fonte renovável, o etanol apresenta um ponto de ebulição adequado para extração e solubiliza bem o óleo de rícino<sup>58</sup>.

No caso de óleo de rícino para fins medicinais, a prensagem é feita a frio, obtendo-se o óleo límpido, incolor e brilhante, livre de ricina, com baixo teor de acidez e impurezas. O óleo medicinal ainda deve passar pelos processos de refino e neutralização, para que seja absolutamente isento de acidez e de impurezas.

Já para a extração do óleo industrial utiliza-se, de preferência, a prensagem a quente das sementes completas, obtendo-se um óleo límpido, brilhante, que pode ter, no máximo, 1% de acidez e 0,5% de impurezas e umidade, depois de refinado.

O óleo industrial também pode ser obtido da torta resultante da extração do óleo medicinal sendo classificado como do Tipo 1, 2 e 3, ou conforme as especificações do mercado importador. O teor de óleo extraído pode variar em uma faixa de 35 a 55%<sup>7</sup>.

## 1.5 APLICAÇÕES DO ÓLEO DE RÍCINO

O óleo de rícino pode ser empregado como substituto de derivados do petróleo<sup>59</sup>, em tintas<sup>60</sup>, em matéria-prima para fabricação de nylon<sup>61</sup>, entre outras aplicações industriais. Uma listagem dos principais produtos que compõem a ricinoquímica encontra-se no ANEXO B.

Além disso, o óleo de elevada qualidade é muito utilizado na fabricação de cosméticos<sup>7</sup>. Também é muito usado por apresentar características como a viscosidade elevada, que o torna superior aos outros óleos.

Na Tabela IV, pode-se observar que, tanto na temperatura de 40<sup>0</sup>C quanto na de 100<sup>0</sup>C, a viscosidade do óleo de rícino é maior. Além disso, com a variação de temperatura este óleo apresenta maior estabilidade<sup>62</sup>. Quando usado como lubrificante, tem grande importância em temperaturas altas e em temperaturas baixas.

O óleo de rícino juntamente com os óleos de soja, canola e girassol são os mais empregados em formulações biodegradáveis de lubrificantes. Estes são empregados em fluidos hidráulicos, compressores, transformadores e outros.

**TABELA IV** - Variação da viscosidade de óleos vegetais em função da temperatura.

Óleo	Viscosidade (cSt)	
	40°C	100°C
Canola	51,0	10,0
Soja	28,5	7,5
Rícino	293,0	20,0
Linhaça	30,0	7,0

*Fonte: Florea et al, 2001.*

No geral, a aplicação do óleo de rícino e de outros óleos nos processos mecânicos está relacionada ao teor de insaturações, pois o excesso de ácidos saturados gera problemas de endurecimento a baixa temperatura e o excesso de poliinsaturados facilita a oxidação em temperaturas mais elevadas.

Neste sentido, o óleo de rícino é uma matriz privilegiada, pois é rico em ácidos monoinsaturados e apresenta biodegradabilidade superior a 90%<sup>63</sup>.

Na alimentação, o consumo ocorre em margarina líquida na forma de ésteres de poliglicerol do ácido ricinoléico<sup>64</sup>.

Como medicamento, apresenta propriedades purgativas e tem capacidade de penetrar facilmente na pele. Estimula fígado, vesícula e cólon, melhorando a circulação linfática e favorecendo o sistema imunológico.

Compressas de óleo de rícino são utilizadas para reduzir inflamações e melhorar a assimilação intestinal.

O ácido ricinoléico absorvido é convertido em prostaglandinas, evitando os sintomas da deficiência desta substância que são: distúrbios menstruais, artrites, pressão sanguínea alta, tendência a engordar e outras<sup>65</sup>.



## 1.6 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO

No geral, o óleo obtido da semente de mamona é um líquido espesso, muito viscoso, cuja cor varia, de incolor ao amarelo-escuro, com cheiro e sabor variados, algumas vezes muito desagradável e nauseoso<sup>7</sup>.

Este óleo vegetal é solúvel em solventes orgânicos como clorofórmio, éter e álcool etílico absoluto, mas insolúvel em hidrocarbonetos alifáticos como no éter de petróleo e vaselina líquida.

Os índices físicos e químicos que caracterizam o óleo de rícino são apresentados na Tabela V.

Os índices deste óleo poderão depender da variedade e das condições de manejo da cultura. Pode ocorrer rancidez, sendo que o índice de acidez (IA) deve ser inferior a 4. Efeitos fotooxidativos e térmicos podem ocorrer com certa facilidade no período de armazenagem<sup>66</sup>. Para óleos refinados, os cuidados não precisam ser tão extremos, tendo-se em vista que são retiradas muitas substâncias responsáveis por reações indesejáveis, como por exemplo, os fosfolipídios<sup>6</sup>.

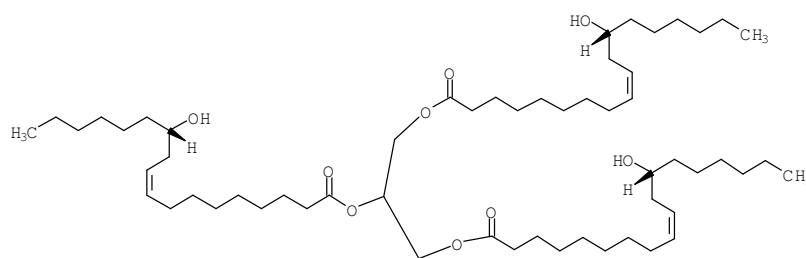
**TABELA V** - Parâmetros físico-químicos do óleo de rícino.

<b>Índices analíticos</b>	<b>Limites extremos</b>
Peso específico	0,945 – 0,965 g mL <sup>-1</sup>
Viscosidade (20 <sup>0</sup> C)	935 – 1033 cP
Índice de saponificação (I. S.)	176 – 187 mg KOH g <sup>-1</sup>
Índice de iodo (I. I.)	80 – 91 g I <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> g <sup>-1</sup>
Índice de refração	1,477 – 1,478
Índice de hidroxilas	150 – 170 mg KOH g <sup>-1</sup>
Índice de acidez (I. A.)	<4 mg KOH g <sup>-1</sup>
Índice de insaponificáveis	0,82 – 0,86 %

*Fonte: Costa, 1994.*

O principal constituinte deste óleo é o triacilglicerol do ácido ricinoléico,

denominado triricinoleína (Figura 7). O ácido ricinoléico (12-OH 9-C18:1)<sup>b</sup> é um ácido graxo incomum, que apresenta 18 carbonos, com uma insaturação *cis* no C<sub>9</sub> e uma hidroxila no C<sub>12</sub><sup>67</sup>. Além do ácido ricinoléico, também são encontrados: o ácido esteárico (C18:0), oléico (9-C18:1), linoléico (9,12-C18:2), linolênico (9, 12, 15-C18:3), palmítico (C16:0) e, segundo alguns autores, o diidroxiesteárico (9, 12 - OH C18:0), apresentados na Tabela VI.



**Figura 7:** Fórmula estrutural da triricinoleína

**TABELA VI -** Composição de ácidos graxos presentes no óleo de rícino

REF.	ÁCIDOS GRAXOS (%)					
	Achaya <i>et al</i> <sup>67</sup>	Payne <sup>68</sup>	Lakshminarayana <sup>69</sup>	Onosendai <sup>c</sup>	Index Merck <sup>70</sup>	Ramos <sup>71</sup>
ÁCIDO GRAXO						
ricinoléico	87,7-90,4	86-92	89,2±0,80	89,5	87,0	88,3±0,24
linolênico	0,5-0,7	-	0,59± 0,24	0,3	-	0,57±0,02
linoléico	4,1-4,7	3-6	3,36± 0,32	4,2	3,0	4,54± 0,10
oléico	2,0-3,3	tr-8,5	3,07± 0,39	3,0	7,0	4,22± 0,11
esteárico	0,7-1,0	1-2	1,03± 0,09	1,0	1,0	0,96± 0,04
palmítico	0,8-1,1	1-2	0,98± 0,13	1,0	2,0	1,28± 0,04
diidroxiesteárico	0,6-1,1	-	0,66± 0,10	0,7	-	-

<sup>b</sup> Representação simbólica empregada em Gunstone, F. D.; Hamilton, R. J. Oleochemical manufacture and applications. CRC Press LLC, Canadá, 2001.

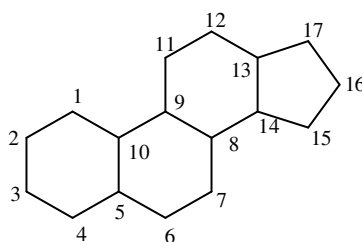
<sup>c</sup> <http://www.onosendai.com.br/mamona.htm>, acessado em 2001.

Nos óleos em geral, os triacilgliceróis correspondem a 98% e podem ser separados nas fases saponificáveis dos óleos. Os 2% remanescentes correspondem aos componentes insaponificáveis, também denominados minoritários.

Na fase insaponificável, aproximadamente 1% do óleo de rícino, podem ser encontrados esteróis e tocoferóis, entre outros, em menores quantidades<sup>72-73</sup>. Para separar estes componentes minoritários, saponifica-se o óleo e separam-se os insaponificáveis do sabão, dissolvendo-os em água e extraíndo-os com éter<sup>74</sup>.

Os esteróis apresentam um esqueleto básico de peridro-ciclopentanofenantreno (Figura 8). São substâncias orgânicas encontradas abundantemente na natureza, usualmente em frações não saponificáveis de gorduras de animais e em óleos vegetais<sup>75</sup>.

Entre os esteróis já identificados no óleo de mamona estão o  $\beta$ -sitosterol, stigmasterol e campesterol. A composição de esteróis que esta fase apresenta pode auxiliar na definição da origem da mesma - animal ou vegetal. Este estudo pode ser realizado através da análise de cristais e do ponto de fusão<sup>76</sup>.

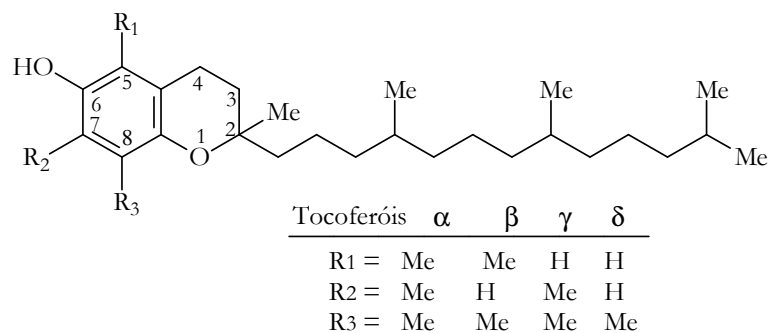


**Figura 8:** Fórmula estrutural básica dos esteróis.

Em estudo recente, após extração em fase sólida (SPE), foram identificados e quantificados no óleo de mamona, os tocoferóis, principalmente o  $\gamma$  e o  $\delta$  tocoferol, e os esteróis, campesterol, stigmasterol,  $\beta$  sitosterol,  $\Delta^5$ -avenasterol,  $\Delta^7$  stigmasterol e  $\Delta^7$ avenasterol<sup>77</sup>.

Os tocoferóis (Figura 9) estão representados principalmente pelo  $\alpha$ -

tocoferol, que apresenta maior atividade biológica, com potencial vitamínico e poder antioxidante. Conforme Ferrari e colaboradores<sup>78</sup>, nos óleos de soja, milho e colza, o  $\gamma$ -tocoferol encontra-se na fase insaponificável nas proporções de 64, 68 e 55%, respectivamente.



**Figura 9:** Fórmula estrutural dos tocoferóis.

## 1.7 TRANSFORMAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS

Uma matéria-prima como um óleo vegetal pode sofrer diversos tipos de transformações. As que ocorrem naturalmente nos óleos são a auto-oxidação, devido à reatividade das insaturações, e a hidrólise, pela ação de determinadas enzimas que rompem as ligações dos glicérides do óleo.

Contudo, para compreender o que ocorre nas transformações de óleos vegetais é necessário conhecer a constituição da sua fase saponificável e do que dependem as suas propriedades.

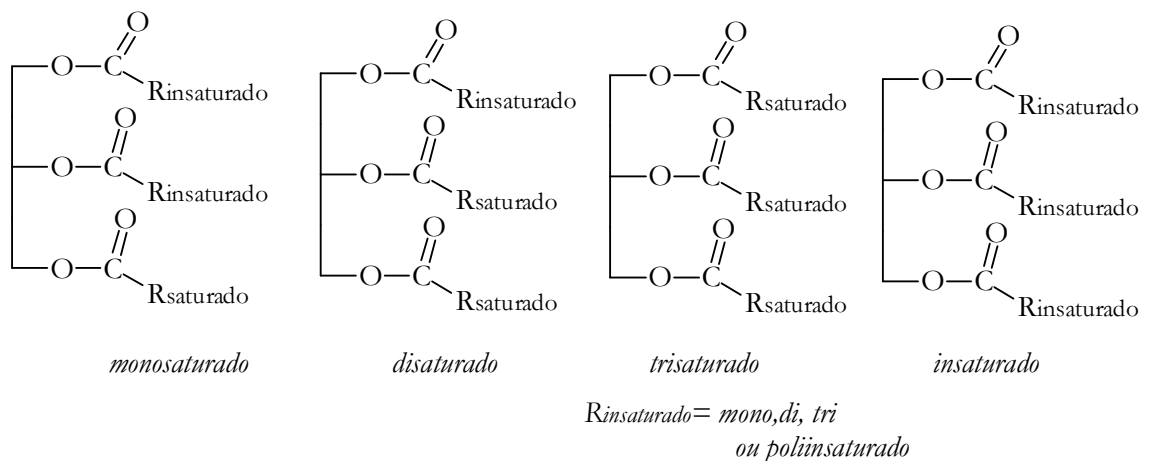
As características físicas e químicas de um óleo dependem do grau de insaturação, das formas isoméricas, do comprimento das cadeias hidrocarbonadas e da configuração molecular dos acilglicéris. Assim, os óleos vegetais constituídos principalmente de moléculas de triacilglicéris, contêm ácidos graxos saturados e

insaturados, substituídos ou não.

Os ácidos graxos nos óleos são monocarboxílicos e possuem número par de átomos de carbono em decorrência da bioprodução a partir de unidades de acetato ( $\text{CH}_3\text{COSCoA}$  = acetil coenzima A combinada com  $\text{CO}_2$  no malonil coenzima A). Encontram-se esterificados, formando mono, di e triacilgliceróis, ou livres, em pequena quantidade<sup>79</sup>.

Com base no número de ligações duplas, os ácidos são denominados mono, di, tri ou poliinsaturados. As ligações duplas ficam dispostas ao longo da cadeia do ácido graxo, assumindo uma configuração *cis* = Z, de forma não conjugada, separadas por um grupo metilênico<sup>79</sup>.

Dependendo da natureza dos ácidos graxos que esterificam o glicerol, os acilgliceróis podem ser denominados: mono, di, trissaturados ou insaturados, como mostra a Figura 10.



**Figura 10:** Classificação dos triacilgliceróis

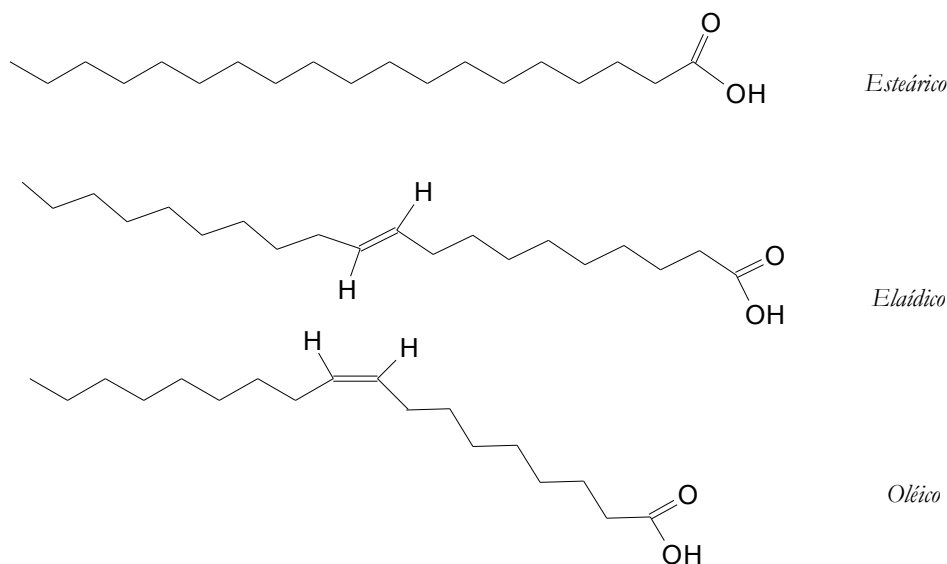
Em geral quanto mais insaturado for o acilglicerol, menor será seu ponto de fusão (PF). Nos óleos com baixo teor de insaturados e alto de saturados também podem ter ponto de fusão baixo, se o comprimento da cadeia for menor.

Quando há presença de isômeros geométricos, as características físicas do

óleo se modificam, assim como o PF que aumenta com o aumento de isômeros *trans*. Como exemplo têm-se os PF do ácido oléico (16<sup>o</sup>C), elaídico (45<sup>o</sup>C) e esteárico (65<sup>o</sup>C), todos com cadeia de 18 carbonos, diferenciando-se pela presença de insaturação e isomerização da dupla ligação presente no carbono 9, como mostra a Figura 11. A diferença no PF do ácido oléico e do elaídico é atribuída à cadeia do elaídico que é mais linear.<sup>80</sup>

Não obstante, em uma mistura de triacilgliceróis têm-se um PF menor que os conhecidos para os componentes individuais. Tem-se, também, uma faixa mais ampla de temperatura de fusão. Além disso, os mono e diacilgliceróis com composições semelhantes fundem a temperaturas mais elevadas que os triacilgliceróis dos mesmos ácidos graxos<sup>25</sup>.

Os óleos com esta diversidade de combinações de ácidos graxos são matéria-prima de fonte renovável para as indústrias em geral, incluindo o ramo alimentício e de química fina.



**Figura 11:** Fórmula estrutural do ácido oléico, elaídico e esteárico.

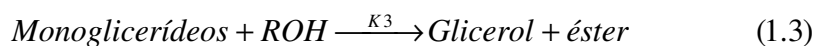
As transformações que podem ocorrer em um óleo, podem ser principalmente por *hidrogenação*, quando há a redução das insaturações; por

*interesterificação*, quando há um reordenamento ou redistribuição dos ácidos graxos no acilglicerol; *esterificação*, quando álcoois reagem com o óleo produzindo ésteres; *hidrólise*, quando há a formação de ácidos graxos e glicerol; e a *polimerização*, quando os ácidos graxos poliinsaturados tendem a formar polímeros, unidos por átomos de carbono ou pontes de oxigênios<sup>25</sup>.

A saponificação de óleos também tem espaço entre as transformações de óleos vegetais. Considerada fácil e já estabelecida em escala industrial, ainda recebe a atenção de pesquisadores que buscam melhorar a homogeneidade das fases e agilizar o processo<sup>81</sup>.

Por outro lado, os óleos vegetais são uma rica fonte de combustível, podendo ser ou não transformados para este fim. Os processos de transformação comumente empregados para produção de combustíveis a partir de óleos vegetais são os de transesterificação, tendo como produto, ésteres, que conhecemos por biodiesel<sup>d,82</sup>.

Nas reações de transesterificação, óleo e álcool podem reagir a 220-235<sup>0</sup>C, em três etapas, conforme as *eq. 1.1, 1.2 e 1.3*<sup>83</sup>. Esta reação para o óleo de soja é possível, entretanto, a razão de conversão do triglicerídeo e diglicerídeo é maior que a do monoglicerídeo.



Desta forma, ésteres de ácidos graxos normalmente são obtidos por reações catalisadas por enzimas ou por catalisadores ácidos<sup>84-85</sup> ou básicos.

---

<sup>d</sup> Outros processos que também são empregados para que os óleos vegetais sejam utilizados como combustível são a diluição, microemulsificação, misturas com co-solventes e pirólise.

Estudos de hidrólise de triglicerídeos seguidos por esterificação com catalisador ácido foram realizadas com sucesso, empregando microondas como fonte de energia<sup>86</sup>. A catálise ácida (HCl e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) também foi utilizada na produção de ésteres etílicos do óleo de palma. A transesterificação foi superior quando o catalisador empregado foi o H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub><sup>87</sup>. No entanto, proporcionam baixo rendimento, ação corrosiva e subprodutos indesejáveis<sup>88</sup>.

Com catálise básica, foi possível a metanólise do óleo de girassol, empregando temperatura ambiente, 1% de KOH e proporção molar de 6:1 de óleo-metanol<sup>89</sup> ou em metanol supercrítico, foi transesterificado o óleo de algodão, colza, girassol e outros<sup>90</sup>. O rendimento é mais elevado do que na catálise ácida, entretanto, existem outros problemas atribuídos a este processo, como a saponificação que conduz a perdas no rendimento da alcoólise.

A catálise empregada na alcoólise a partir dos acilgliceróis e etilenoglicol pode ser realizada por óxidos como o de cálcio e o de zinco, sais como acetato de cálcio e de bário e por carbonato de cálcio<sup>91</sup>.

Assim sendo, a transformação de óleos vegetais, seja catalítica ou não, representa um ramo da química que está fundamentada no emprego de matérias-primas renováveis. Atualmente esta área está desenvolvida, entretanto são necessários esforços para reduzir os gastos de energia dos processos, aumentar a seletividade e ampliar o uso de catalisadores, com ênfase em biocatalisadores e catalisadores quirais<sup>92</sup>.

### 1.7.1 TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO

O óleo de rícino sofre modificações principalmente em três sítios reativos que correspondem a insaturação, o éster e a hidroxila, considerando que os



acilgliceróis do óleo apresentam em torno de 90% de ácido ricinoléico.

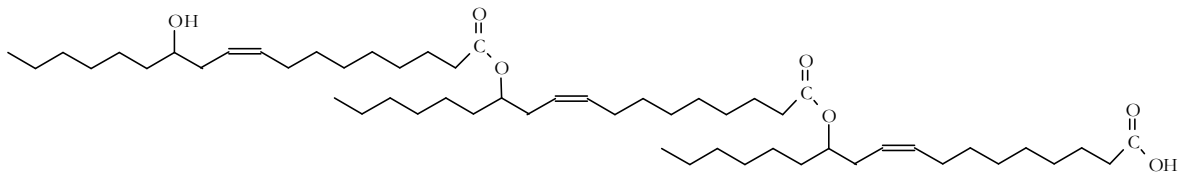
Na literatura, encontram-se inúmeras reações já estudadas com este óleo, como: glicerólise, hidrogenação, acetilação, hidroxilação, polimerização<sup>93-94-95</sup>, sulfonação<sup>96</sup>, fusão alcalina<sup>97</sup>, desidratação<sup>60,98-99</sup>, produção de uretanas<sup>100</sup>, pirólise, formação de estolitos<sup>101</sup>, cianoetilação<sup>102</sup>, epoxidação<sup>103-104</sup> e acetoacetilação<sup>105</sup>.

Para a indústria de tintas, o óleo de rícino é considerado semi-secativo por apresentar, principalmente, ácidos monoinsaturados. Quando desidratado, torna-se um óleo secativo; e quando acetoacetilado, têm um alto poder de cura à temperatura ambiente<sup>105</sup>.

Na desidratação é produzido o óleo de rícino desidratado (DCO), um produto com alto conteúdo de dienos utilizado em materiais para tratamento de superfícies, com boa flexibilidade, rápida secagem, excelente retenção de cor e resistente a água<sup>99</sup>. Na epoxidação de ésteres do ácido ricinoléico, visando à produção de epóxi álcoois, são relatados estudos empregando etilmetildioxirano<sup>103</sup> e reação com o ácido metacloroperbenzóico sob irradiação de microondas<sup>86</sup>.

Os monoglicerídeos do óleo de rícino e de outros óleos também são importantes para oleoquímica, geralmente podem ser produzidos por reações de glicerólise de triglicerídeos<sup>106</sup>, hidrólise de triglicerídeos ou esterificação direta do glicerol com ácidos graxos, conferindo ao produto um grande poder emulsificante<sup>107</sup>.

Estolitos - oligômeros formados pela esterificação da carboxila de uma molécula de ácido com o grupo hidroxila do carbono 12 de outra molécula (Figura 12) -, apresentam maior biodegradabilidade do que os polímeros provenientes do petróleo e são facilmente hidrogenados a ácido 12-hidroxiesteárico<sup>101</sup>.



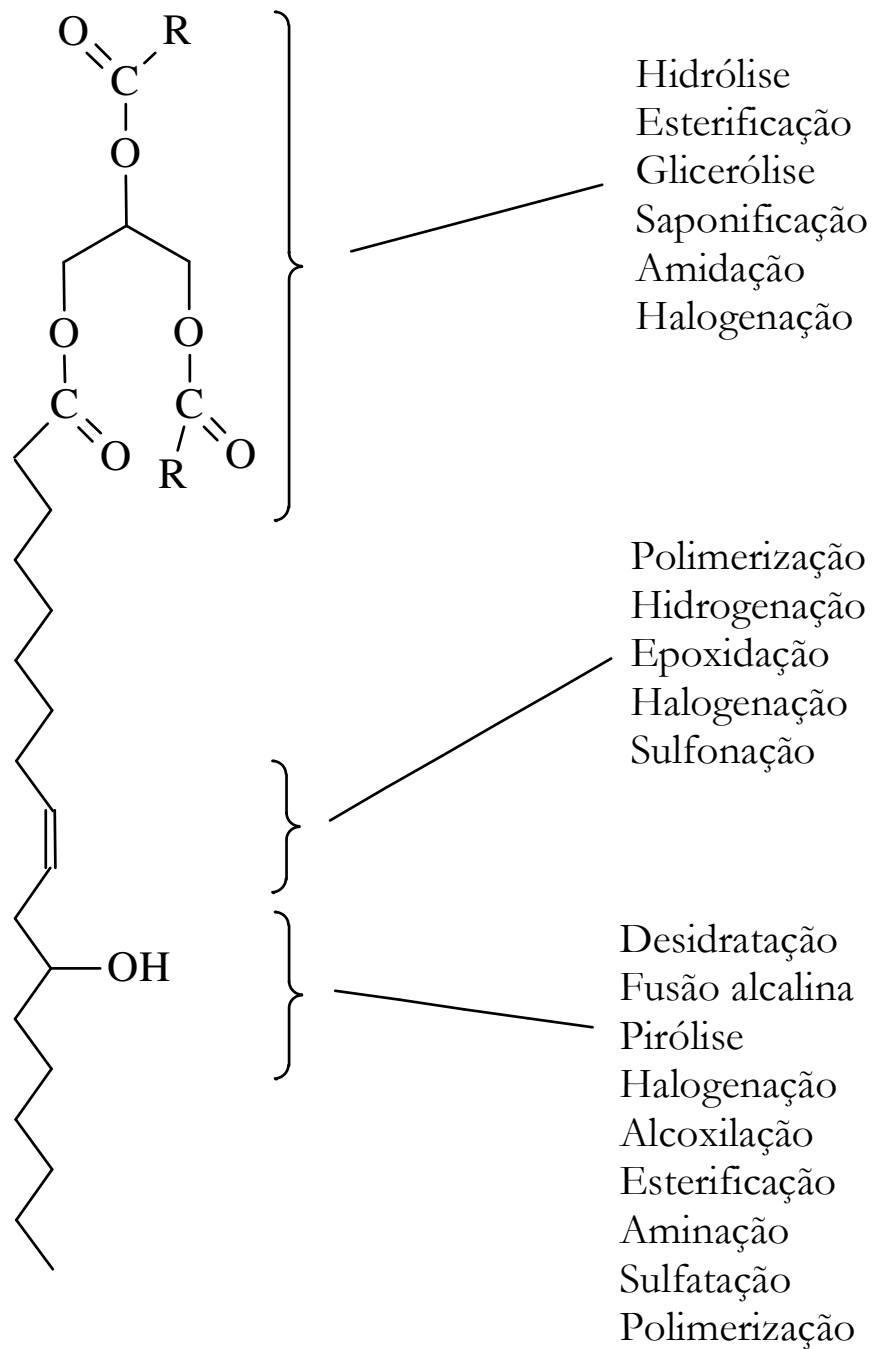
**Figura 12:** Estolitos do ácido ricinoléico

Com o aquecimento do óleo de rícino a temperaturas acima de 300°C podem ocorrer fragmentações da molécula entre os carbonos C<sub>11</sub> e C<sub>12</sub>, obtendo-se o aldeído heptílico e o ácido undecilênico, empregados na produção de perfumes; e entre os carbonos C<sub>10</sub> e C<sub>11</sub> obtém-se o intermediário sintético para produzir metilhexilcarbinol-*n*(2-octanol) associado ao metil-hexilcetona<sup>7</sup>.

Dentre as transformações desejáveis para o óleo de rícino (Figura 13), a hidrogenação gera produtos de grande importância industrial, bem como a desidratação e a esterificação<sup>108</sup>, que são usadas industrialmente para a produção de resinas alquídicas não secantes e secantes.

Quanto à produção de poliuretanas, estas podem ser produzidas a partir da policondensação tridimensional dos grupos OH do óleo de rícino com diisocianatos. O produto obtido apresenta excelentes propriedades elétricas, de absorção do choque e estabilidade hidrolítica<sup>95</sup>. Nos experimentos que envolvem a fusão alcalina a temperaturas elevadas (acima de 250°C), há uma grande produção de ácido sebácico e a temperaturas mais baixas (180 – 200°C) forma-se o ácido 10-hidróxi-decanóico<sup>97</sup>.

A sulfonação é outro método bastante utilizado industrialmente. O óleo sulfonado é produzido a partir de SO<sub>3</sub> ou H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. As propriedades do óleo de rícino sulfonado permitem o seu uso como agente emulsificante e surfatante têxtil<sup>96</sup>.

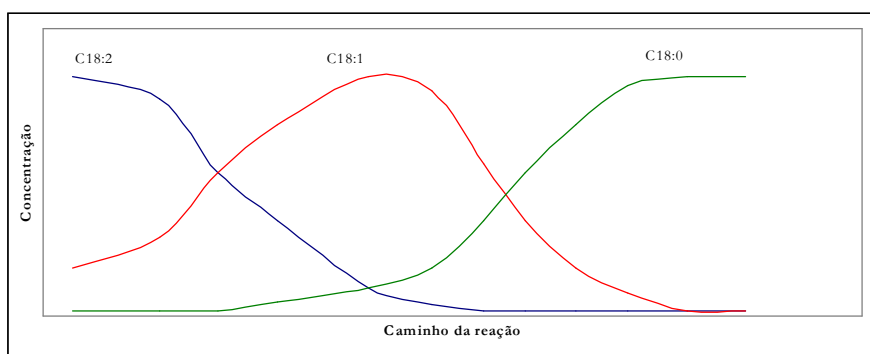


R= cadeia hidrocarbonada dos ácidos graxos presentes no óleo de rícino

**Figura 13:** Reações químicas nos três pontos de funcionalidade do óleo de rícino.

## 1.8 HIDROGENAÇÃO

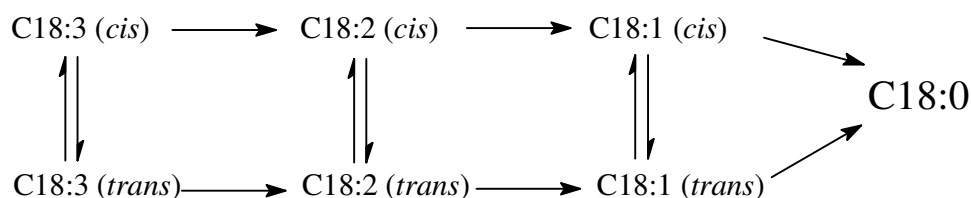
Teoricamente, a redução das insaturações em óleos percorre um provável caminho de reação, demonstrado na Figura 14, onde o primeiro ácido graxo que deve reagir é o que possui mais insaturações e que se situa na posição mais externa no triglicerídeo<sup>109-110</sup>.



**Figura 14:** Representação teórica do consumo das insaturações de ácidos graxos

Assim, as insaturações vão sofrendo adição de hidrogênio (oriundo do  $H_2(g)$  ou de um solvente doador) do mais insaturado ao menos insaturado, portanto reduzindo com seletividade os poliinsaturados presentes nos óleos (Figura 15)<sup>111</sup>.

Nestas reações, pode ocorrer a formação de isômeros tanto geométricos (*cis/trans*) como de posição<sup>112</sup>. Em geral, com o aumento da temperatura e da concentração de catalisador aumenta a formação de isômeros geométricos, com o aumento da pressão, o efeito é contrário<sup>113</sup>.



**Figura 15:** Esquema de reação para a hidrogenação de ácidos graxos poliinsaturados

Existem estudos de inversão de geometria *trans* para *cis* após a hidrogenação<sup>114</sup>, empregando N-bromosuccinamida e ácido clorídrico. No entanto, esta é uma etapa que pode comprometer a utilização do produto final para a alimentação, devido aos intermediários com bromo e cloro. O mais apropriado seria dominar os processos de redução das insaturações, evitando a formação de isômeros geométricos.

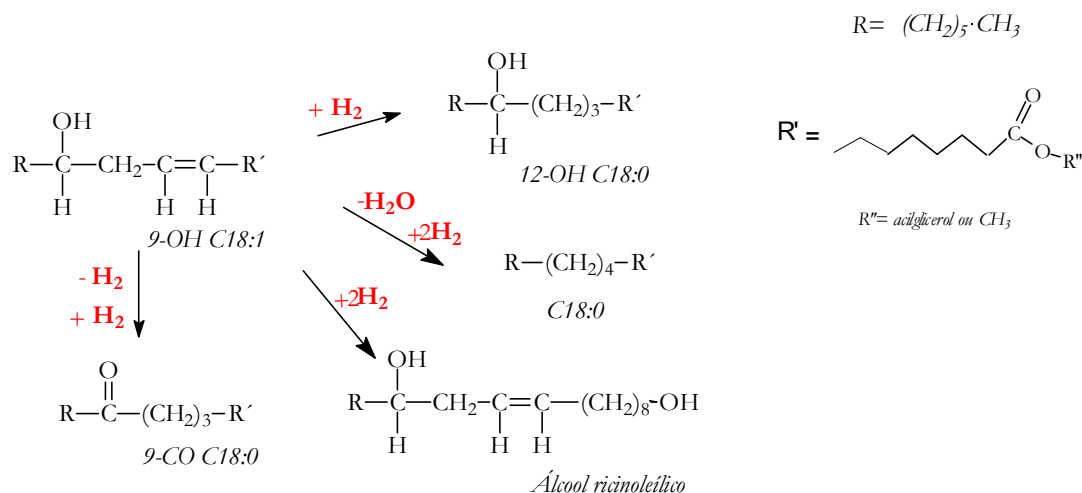
A formação de uma mistura de isômeros na hidrogenação interfere na aplicabilidade do produto formado. Este fato pode ser observado a partir da densidade e da viscosidade, propriedades físicas dos óleos, facilmente medidas<sup>115</sup>.

Nas hidrogenações com o uso de  $H_2(g)$ , fatores como: temperatura, pressão, transferência e concentração de hidrogênio, natureza do óleo, atividade e concentração de catalisador, além da dispersão de hidrogênio e de catalisador no meio reacional, influenciam na seletividade da reação<sup>116</sup>.

Nos estudos realizados com a finalidade de entender o mecanismo da reação, *Coenen*<sup>110</sup> observou que o gás hidrogênio dissolve-se no óleo para alcançar a superfície do catalisador, movendo-se pelo óleo por difusão molecular. O óleo que cerca as partículas do catalisador é, então, alcançado pelo gás. O hidrogênio é difundido sobre a superfície do catalisador, podendo reagir desta maneira com as moléculas insaturadas. O hidrogênio é, então, levado com preferência para a posição mais reativa da molécula do óleo ou para o ácido graxo mais insaturado.

O óleo de rícino pode ser hidrogenado por vários caminhos. Ocorre a hidrogenação das duplas ligações formando acilgliceróis dos ácidos, 12-hidroxiesteárico, esteárico, 12-cetoesteárico ou forma álcool ricinoleílico (Figura 16)

60.



**Figura 16:** Caminhos de hidrogenação do ricinoleato.

Em geral, o objetivo da hidrogenação é a produção de gordura sólida com consistência e aparência desejadas. Corresponde a um produto rico em hidroxiestearatos com aparência de cera branca e que pode substituir a tradicional cera de carnaúba. Comercialmente<sup>e</sup>, é denominado óleo de rícino hidrogenado (HCO) e é constituído de 84-86% de 12-hidroxiestearatos, 3 a 5% de 12-cetoestearatos e o seu índice de iodo conserva-se entre 2 a 5.

Segundo Vishwanadham e colaboradores<sup>117</sup>, a produção de estearatos, empregados na indústria saboeira pode ser a partir do óleo de rícino, utilizando simultaneamente reações de desidratação e de hidrogenação. Nesse estudo, a temperatura foi de 180 a 220<sup>o</sup>C, 4 a 6 h, 0,05 a 0,2% de Ni e fluxo de H<sub>2</sub>(g) de 10 a 27L h<sup>-1</sup>kg<sup>-1</sup> de óleo.

Em estudos já relatados sobre o óleo de rícino, realizados por Trivedi e Vasishtha<sup>118</sup>, foi possível hidrogenar este óleo, produzindo hidroxiestearatos, com o emprego de catalisador de níquel, a pressão de hidrogênio entre 2,0 a 0,5 kg cm<sup>-2</sup>, temperaturas entre 130 a 135<sup>o</sup>C e tempo de reação em torno de 6 h.

Sreenivasan e Kamat<sup>119</sup> realizaram a hidrogenação do óleo de rícino utilizando Ni Raney<sup>f</sup> como mistura catalítica, na presença de etanol, produzindo hidroxiestearatos a baixa pressão de H<sub>2</sub>.

No ano seguinte, Zajcew<sup>120</sup> publicou seus resultados de hidrogenação do óleo de rícino, empregando Pd/C e uma mistura catalítica contendo Ag, Bi e Pd. Observou que com o Pd/C, além da hidrogenação das duplas, ocorria rapidamente a redução da hidroxila enquanto que, com a mistura catalítica, os resultados foram mais satisfatórios, reduzindo reações secundárias como a formação de éter, estolitos e a hidrólise.

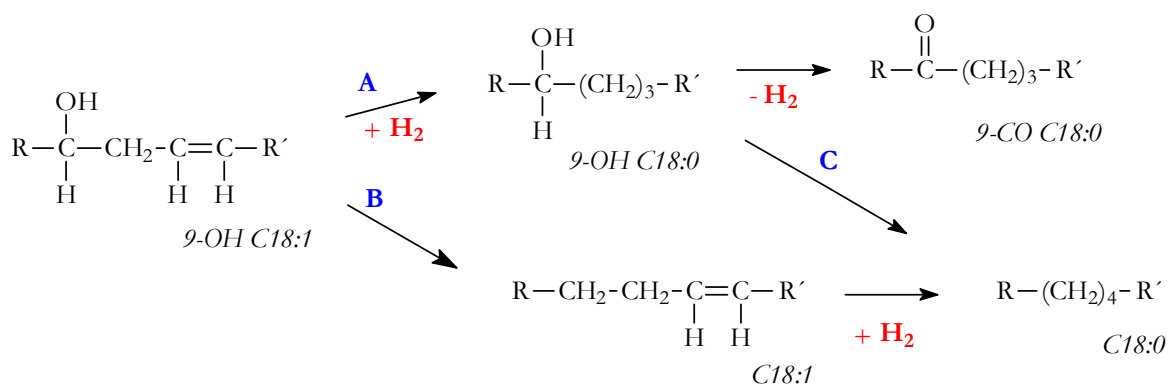
A produção de 12-cetoestearato foi obtida por Freedman e colaboradores<sup>121</sup>, por meio de concentrações elevadas de Ni Raney em uma reação organometálica, em proporções de 1:1 e 1:2 (m/m) de ricinoleato de etila de partida em relação ao Ni Raney. Constataram por cromatografia gasosa que a reação ocorria com um sentido preferencial de hidrogenação seguida de desidrogenação (A); a desidrogenação começava antes da hidrogenação estar completada; e a hidrogenólise (B e C) ocorria nas condições em que foi utilizada menor concentração de Ni Raney, como mostra a Figura 17.

An *et al*<sup>122,123,124</sup> publicaram, recentemente, três trabalhos em que descreveram a hidrogenação eletroquímica de óleos vegetais. Cátodos de Pd e ânodos de RuO<sub>2</sub> foram testados em um sistema onde uma membrana catiônica os separava. Comparado com os sistemas clássicos de hidrogenação com paládio, na hidrogenação eletroquímica houve redução da formação de isômeros geométricos.

---

<sup>e</sup> Surfactant Specialities Private Limited – Mumbai - Índia

<sup>f</sup> uma forma ativa de níquel que é obtido pela reação de uma liga de níquel-alumínio com solução de hidróxido de sódio, a qual dissolve o alumínio e deixa um pó de níquel com grande área superficial.



**Figura 17:** Mecanismo proposto para a produção de 12-cetoestearato a partir de reação com Ni Raney.

Uma alternativa inovadora dos processos clássicos é a hidrogenação em propano supercrítico, formando uma mistura ternária com hidrogênio<sup>125</sup>.

### 1.8.1 CATALISADORES

Para reações de hidrogenação, a escolha de catalisadores baseia-se na natureza química do composto a ser hidrogenado, na sua afinidade com o hidrogênio e no tipo de suporte utilizado<sup>126</sup>.

Em catálise heterogênea, catalisador e reagentes encontram-se em diferentes estados físicos. Para aumentar a superfície de contato com o óleo, a reação é feita sob agitação.

Johnson, citado por Gray e Russel<sup>127</sup> propôs uma classificação dos metais com atividade catalítica (Tabela VII) de acordo com a orientação e ocupação dos orbitais *d* mais externos de cada metal. Os metais propostos para formar complexos com olefinas são os que apresentam elementos da Classe III.

Estes metais utilizam elétrons de orbitais *d* semipreenchidos para formar ligações  $\sigma$ , com as olefinas<sup>127</sup>.



**TABELA VII** - Classificação dos metais catalíticos

<b>Classes</b>	<b>Metais</b>
I	Mo, W
II	Rh, Ir, Ru, Ti, Re
III	Fe, Co, Ni, Pd, Pt, Cu, Ag, Au
IV	Zn, Ga, Cd, In, Ge, Sn, Pb

Por outro lado, a eficiência da hidrogenação, empregando sistemas catalíticos heterogêneos, dependerá da quantidade e tipo de suporte, além da natureza do metal catalítico<sup>128</sup>.

O uso de metal puro na catálise não é comum. Em alguns casos, metais puros finamente divididos ou ligas são empregados, mas na indústria os catalisadores são, geralmente, utilizados no estado oxidado sobre suportes como argila, sílica gel, sílica-alumina, e reduzidos *in situ*<sup>129</sup>.

Com o Ni foi também investigada a eficiência de suportes como sepiolita<sup>130</sup>, bentonita e paligorskita<sup>131</sup>. Jovanovic *et al*<sup>132</sup>, em 1998, publicaram resultados de alta seletividade na hidrogenação de óleos vegetais empregando um sistema catalítico de níquel suportado em diatomita, um silicato natural.

O Níquel Raney é utilizado em médias e altas pressões e o produto comercial é constituído de 22 a 25% de Ni<sup>133</sup>.

Apesar do níquel ser mais viável economicamente, ele possui uma desvantagem em relação aos demais catalisadores: durante a reação de hidrogenação pode ocorrer a formação de sal de níquel do ácido graxo, que por dissolução forma o óxido de níquel, deixando o produto esverdeado e aumentando a suscetibilidade à oxidação e desativação do catalisador<sup>134</sup>.

Nas últimas publicações sobre hidrogenação do óleo de rícino foram apresentados os resultados obtidos, utilizando Ni suportado em zeólitas NaY e o

sistema Ni Raney comercial. Os autores concluíram que o emprego de Ni 5% suportado em zeólitas era mais ativo e seletivo; logo, mais efetivo na hidrogenação do óleo de rícino do que o sistema Ni Raney<sup>135</sup>.

Paládio preto, Pd/alumina, Pd/BaSO<sub>4</sub> e Pd/C são bastante utilizadas na redução das insaturações de óleos vegetais. Em 1985 Hsu *et al*<sup>136</sup> constataram, nos experimentos realizados com Pd sobre diferentes suportes, que formou-se uma menor concentração de isômeros geométricos quando foi utilizado o Pd/alumina. O paládio suportado comparado ao metal puro finamente dividido é mais ativo e seletivo, destacando-se na hidrogenação de duplas ligações entre carbono-carbono<sup>137</sup>.

Hsu e os mesmos colaboradores<sup>138</sup>, três anos depois, estudaram o paládio com diferentes suportes, porém, considerando o efeito da pressão, temperatura, concentração de catalisador e do tipo de óleo. Estes autores constataram que com uma pressão de H<sub>2</sub>(g) de 70 psi, a 90°C e com 50 a 100 ppm de Pd/alumina e 5%, o processo industrial de hidrogenação era viável, produzindo menos da metade dos isômeros *trans* do que quando utilizado o Ni Raney. Com 5,5 ppm de Pd/C a 5%, foi possível hidrogenar o óleo de soja produzindo margarina.

Observaram também que o Pd (560 ppm) utilizado em laboratório para hidrogenar óleos comestíveis, produzia um máximo de 14,1% de isômeros *trans*, a temperatura de 50°C e pressão de 750 psi. Assim, um excepcional desempenho do Pd como catalisador foi observado por Hsu e colaboradores<sup>138</sup> na CTH dos óleos de soja e de canola.

Este foi atribuído, pelo menos em parte, à capacidade deste metal de permitir o deslocamento das ligações de ambos, carbono e hidrogênio, nos sítios ativos<sup>139</sup>.

O sistema Pd/C mostrou-se altamente ativo e seletivo a 80-90°C quando utilizado na CTH do ácido carboxílico  $\gamma$ -ceto-  $\alpha,\beta$  insaturado, utilizando formiato

de sódio como doador de hidrogênio<sup>140</sup>.

Em 1960, Zajcew<sup>141,142,143</sup> publicou uma série de resultados obtidos na hidrogenação de óleos vegetais, utilizando paládio como catalisador. O produto comercializado na época apresentava pequenas diferenças com relação ao índice de iodo que era maior, a uma maior quantidade de ácido linoléico e de isômeros *trans*. Também ocorria menor quantidade de ácidos saturados. Nestes trabalhos, houve um avanço tecnológico nas investigações em nível de laboratório, para planta piloto e em seguida para escala industrial, constatando-se que o paládio podia competir com o níquel.

Alguns estudos de hidrogenação de óleos vegetais também empregam outras misturas catalíticas para catálise heterogênea à base de ouro<sup>144</sup>, irídio<sup>145</sup>, platina<sup>146,147</sup> e cobre<sup>137</sup>; e para catálise homogênea, rutênio<sup>148</sup> e crômio<sup>149,150,151</sup>. Além destes, existem relatos do emprego de catalisadores bimetálicos, como rênio-ósmio<sup>152</sup>.

## 1.8.2 TEMPERATURA E AGITAÇÃO

A temperatura possui um papel muito importante em reações de hidrogenação, pois influencia diretamente nos resultados e na velocidade de reação. Para que um óleo tenha suas insaturações reduzidas, a temperatura deve ser satisfatória para a ativação do catalisador.

Na hidrogenação com  $H_2(g)$ , a temperatura aumenta a solubilidade do hidrogênio molecular no meio reacional e na CTH favorece a transferência de hidrogênio de um doador, sendo uma variável muito importante<sup>139</sup>.

Tanto a temperatura como a agitação controlada favorece a reprodutibilidade dos resultados encontrados nos experimentos. Arkad *et al.*<sup>153</sup> citaram que o agitador mecânico e o agitador magnético produzem o mesmo resultado em taxa de reação

em escala laboratorial. Apesar desta constatação, sabe-se que, com agitação magnética, ocorre alteração nos resultados se o produto da reação tiver alta viscosidade, dificultando a difusão do hidrogênio e do catalisador no meio reacional. Isto pode ser observado em reações de hidrogenação do óleo de rícino a temperaturas baixas<sup>118</sup>.

Destaca-se que a execução de experimentos com altos rendimentos não depende somente do sistema catalítico, mas também da transferência de massa entre o gás e o líquido e entre o líquido e o sólido.

Os reatores industriais, ou em nível de bancada, para processos contínuos ou de batelada têm sido aprimorados, visando uma perfeita difusão e recirculação de  $H_2(g)$ <sup>154</sup>. Os mecanismos de agitação mecânica foram discutidos por Trivedi e Vasishtha<sup>118</sup> em trabalho publicado em 1997.

Beal e Lancaster<sup>155</sup> concluem com seus resultados que o aumento da velocidade de agitação não é favorável para a seletividade. No entanto, esta é uma alternativa a ser analisada para reduzir a formação de isômeros geométricos.

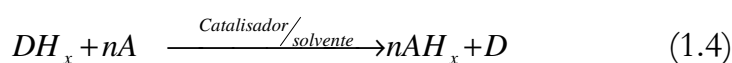
## 1.9 HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA POR TRANSFERÊNCIA

Quando são utilizadas moléculas orgânicas como doadores de hidrogênio, tem-se a CTH. Trata-se de uma reação onde o solvente pode ser o doador de hidrogênio e que exige apenas temperatura e uma agitação vigorosa, não necessitando de reatores especiais com controle de pressão<sup>154,156,157,158</sup> e nem de gás hidrogênio que é potencialmente explosivo.

Segundo Braude e Linstead<sup>159</sup>, a reação pode ocorrer de várias formas: um hidrogênio da molécula do doador pode migrar dentro da própria molécula; pode ocorrer a transferência de hidrogênios entre moléculas diferentes do doador, sendo

assim as moléculas doadoras eceptoras idênticas, processo conhecido como desproporcionamento; e pode ocorrer a transferência de hidrogênio entre as moléculas diferentes, ou seja, as doadoras sejam distintas das eceptoras, num processo chamado de desidrogenação-hidrogenação.

Genericamente a CTH pode ser rerepresentada pela eq. 1.4 onde o doador de hidrogênio (DH) pode ser constituído de diferentes substâncias que serão discutidas a seguir, e o eceptor (A) pode ser qualquer substância que se deseja reduzir as insaturações, por exemplo um óleo vegetal.



A redução de ligações duplas que ocorre em óleos vegetais empregando a CTH, está entre as reações de transferência de hidrogênio classificadas por Braude e Linstead<sup>159</sup>. Alguns estudos de CTH, realizados com óleos vegetais ou ésteres de ácidos graxos, estão resumidos na Tabela VIII.

**TABELA VIII** - Alguns estudos de CTH realizados com óleos vegetais e ésteres de ácidos graxos.

Doador	Aceptor (óleo/éster)	Catalisador	Referência
ácido fórmico, formiatos de metais alcalinos	Soja ésteres metílicos.	Pd*	153, 160, 161,162
formiato de sódio	oliva, girassol, amendoim, milho.		163
etanol isopropanol	amendoim e açafraão tungue	Ni*	164 165
indolina isopropanol	metil linoleato	Pd*, Ru**, Rh**, Pt*, Ir*	166
etanol	ricino	Ni*	119

\*Catálise heterogênea

\*\*Catálise homogênea

Cabe registrar que os sistemas mais estudados com estes materiais de partida

empregaram Níquel ou Paládio como catalisadores e solução de formiato de sódio e álcoois como solventes doadores. Segundo Brieger e Nestrück<sup>139</sup> em 1974, o Pd era o catalisador mais utilizado para realizar CTH.

### 1.9.1 SOLVENTES DOADORES

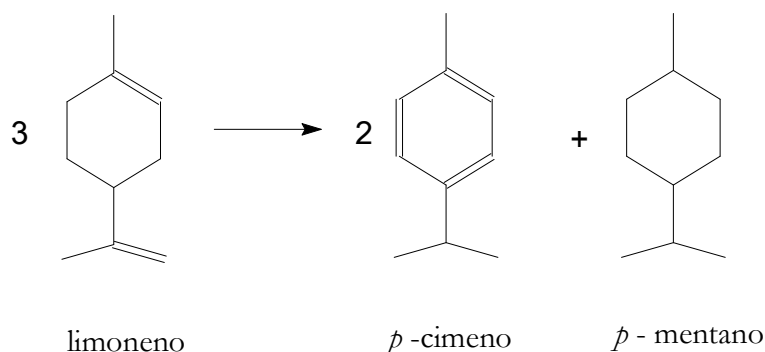
Muitas foram as moléculas doadoras de hidrogênio já estudadas, podendo-se citar: hidrazina<sup>167</sup>, dioxano<sup>168</sup>, álcoois primários e secundários<sup>164,166</sup>, indolina<sup>166</sup>, hidrocarbonetos hidroaromáticos<sup>169</sup>, ácido fórmico<sup>152</sup>, formiatos<sup>157</sup>, fosfinatos<sup>161</sup> e o ácido fosfínico<sup>166</sup>, selecionados de acordo com a disponibilidade, eficiência, facilidade de manipulação e o mais importante, o tipo de catalisador a ser empregado.

Geralmente, quando o cicloexeno como doador de hidrogênios e o paládio como catalisador, obteve-se alta conversão em produto reduzido, entretanto a seletividade foi baixa. Este fato pode ser exemplificado na redução do linoleato de metila com 5% de Pd/C, a 140<sup>o</sup>C tendo o cicloexeno como doador, onde houve 88% de conversão e 45% de seletividade<sup>168</sup>.

Nas indústrias usam-se preferencialmente doadores em solução aquosa devido à facilidade dos processos de purificação no final da reação, onde o sal que se forma permanece na fase aquosa. Quando da utilização de solventes orgânicos, são necessários processos de purificação especiais, para que o produto final possa ser empregado na alimentação<sup>80</sup>.

Doadores de hidrogênio, como 2,5-diidrofurano, álcool benzílico e ciclohexanol são substâncias que rapidamente resultam em produtos dehidrogenados sob condições catalíticas. Seus produtos são relativamente resistentes à redução. Outros álcoois e hidroaromáticos também são bons doadores

de hidrogênio<sup>170</sup>, como o caso do limoneno (Figura 18) que é o principal constituinte do óleo essencial do limão e da bergamota<sup>171</sup>. Este óleo essencial tem sido utilizado com sucesso na CTH de compostos orgânicos como cetonas alicíclicas  $\alpha,\beta$ - insaturadas<sup>172,173,174</sup> e de polímeros<sup>175</sup>.



**Figura 18:** Reação de desproporção completa do limoneno.

Nestes casos, foi observado o alto valor de conversão do material de partida insaturado a um produto saturado em um tempo reduzido de reação<sup>170</sup>.

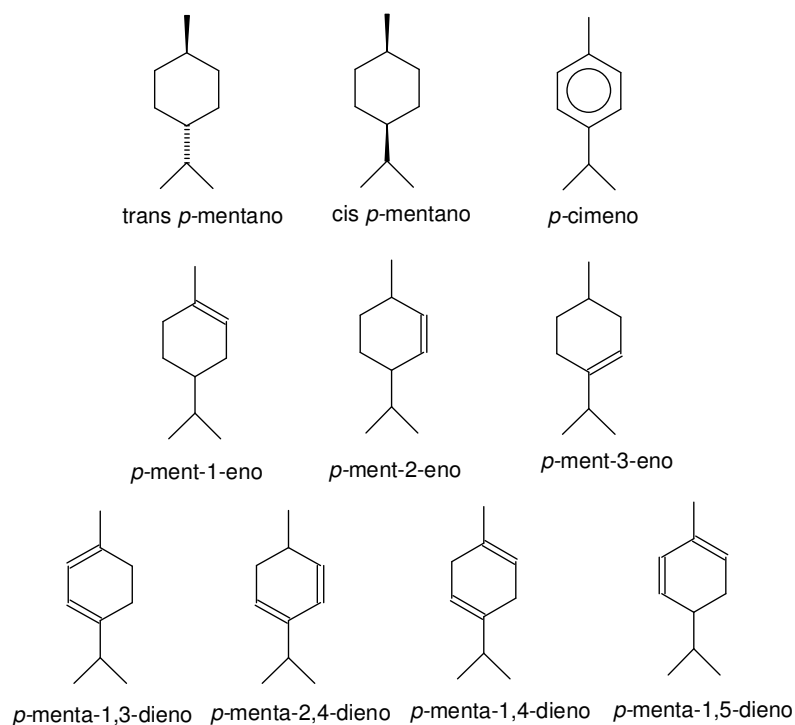
Como vantagem, tem-se a abundância do limoneno, que é obtido de frutas cítricas, como citado acima, além de ser de fácil manipulação e permitir uma temperatura reacional mais elevada que o com o cicloexeno.

O mecanismo provável da reação com o catalisador Pd/C foi recentemente estudado<sup>169</sup>.

Nesta reação de transferência de hidrogênios, entre moléculas de limoneno, são produzidos outras substâncias intermediárias na formação dos produtos finais *p*-cimeno e *p*-mentano (Figura 19), alguns deles detectados no meio reacional.

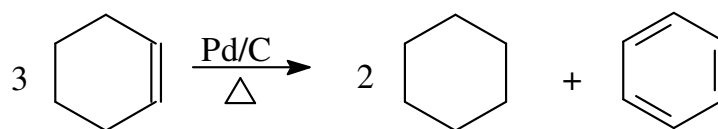
Quando o cicloexeno (0,81 g cm<sup>-3</sup> a 20°C) é utilizado na CTH, formam-se substâncias mais fáceis de serem separados do material de partida hidrogenado (benzeno e cicloexano), como mostra a Figura 20. Além de levar a alta taxa de redução das olefinas, o cicloexeno também apresenta uma temperatura de reação

razoavelmente baixa, comparada à do limoneno, porém apresenta maior toxicidade que este.



**Figura 19:** Produtos de desproporção do limoneno.

Numa comparação direta com o limoneno, observa-se como desvantagem a toxicidade do cicloexeno<sup>§</sup> que é maior.



**Figura 20:** Produtos de desproporção do cicloexeno.

<sup>§</sup> [http://www.merck.de/german/services/chemdat/index\\_chemdat.htm](http://www.merck.de/german/services/chemdat/index_chemdat.htm) -inalação, ingestão, absorção pela pele pode causar danos crônicos até a morte.



## 1.10 BIOTRANSFORMAÇÃO ENZIMÁTICA

A biotransformação pode ser utilizada para modificações específicas ou para a interconversão de estruturas químicas, entre elas as dos óleos, empregando enzimas contidas em células ou isoladas. Todas as enzimas empregadas em transformações são de organismos vivos, de origem animal, vegetal ou de microorganismos.

As enzimas de plantas ou de microorganismos são obtidas com mais facilidade que as de origem animal. De maior interesse comercial são as enzimas microbianas devido ao curto período de desenvolvimento, à grande diversidade de processos metabólicos e à infinidade de microorganismos presentes na natureza passíveis de serem testados, além de modificarem e degradarem moléculas orgânicas complexas<sup>176</sup>.

Apresentam peso molecular de 20.000 a 200.000 daltons e são ativas entre pH 4 a 9, com temperatura variando da ambiente a 70°C. Temperaturas mais altas levam à desnaturação, por alterar as ligações químicas que mantêm a estrutura tridimensional da enzima<sup>177</sup>.

Um exemplo de enzima de origem vegetal é a lipase, extraída da semente de mamona, a qual biocatalisa reações de ácidos graxos com glicerol<sup>178</sup>, ou a hidrólise visando à produção de monoglicérides<sup>179</sup>.

Atualmente, enzimas microbianas são amplamente utilizadas no processamento de alimentos, na produção de detergentes (biológicos), indústrias têxtil e farmacêutica, na química orgânica, na biologia molecular e em aplicações médicas.

As enzimas, usualmente, são classificadas em três grupos, em função de suas regioseletividades com relação aos substratos de acilgliceróis. Em um grupo, estão

as produzidas pela *Candida cylindracea*, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, que catalisam a quebra completa dos triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol.

Um segundo grupo é constituído pelas enzimas do *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens*, *Humicola lanuginosa*, *Chromobacterium viscosum* e de várias espécies *Rhizopus* e *Mucor*. São regioespecíficas, liberando os ácidos graxos da posição 1 e 3 do acilglicerol, produzindo mono e diglicerídeos.

E no terceiro grupo estão as que apresentam especificidade com relação a determinados ácidos graxos, em particular. Destaca-se a enzima do *Geotrichum candidum* que apresenta especificidade para hidrolisar ésteres de cadeia longa, preferencialmente de ácidos com insaturação no carbono 9 (*cis*)<sup>182</sup>. Algumas apresentam a habilidade de discriminar enantiômeros; quanto aos acilgliceróis, esta ação vai depender da natureza química do éster, particularmente os de cadeia longa<sup>180</sup>.

As reações catalisadas por enzimas apresentam velocidade  $10^6$  a  $10^{12}$  vezes maiores do que as não catalisadas. Comparada à catálise inorgânica, a enzimática tem algumas vantagens, como alto grau de especificidade, ajuste contínuo da velocidade e de concentração em função das condições celulares e são geralmente sintetizadas nas próprias células<sup>177</sup>.

A ação de enzimas como biocatalisadores pode sofrer influência de fatores como pH, temperatura, interações químicas do fluido, agentes químicos e irradiação. As que atuam sobre a ligação éster do substrato são denominadas lipases (glicerol éster hidrolase EC 3.1.1.3).

Originalmente, as lipases são definidas como carboxilesterase, pois catalisam reações de hidrólise e síntese de acilgliceróis de cadeia longa, podendo viabilizar a produção de biopolímeros, biodiesel, sínteses em química fina, como produção de agroquímicos, cosméticos e aromatizantes<sup>181</sup>.

As lipases de vários microorganismos têm sido empregadas como biocatalisadores para a hidrólise, esterificação, transesterificação e interesterificação de óleos e gorduras. Alguns exemplos de lipases comerciais são apresentados na Tabela IX<sup>182</sup>.

**TABELA IX** - Exemplos de Lipases comerciais.

<b>Fonte</b>	<b>Marca</b>	<b>Empresa</b>
<i>Aspergillus niger</i>	Lipase AIE	<i>Amano</i>
<i>Rhizopus japonicus</i>	Lipase <i>Saiken</i>	<i>Osaka Saiken</i>
<i>Rhizopus arrhizus</i>	Lipase 80000	<i>Gist Brocades</i>
<i>Rhizopus delamar</i>	-	<i>Sheikagu-Kogyo</i>
<i>Mucor miehi</i>	<i>Lipozyme IM*</i>	<i>Novo Nordisk</i>
<i>Candida antarctica B</i>	<i>Novozym 435</i>	<i>Novo Nordisk</i>
<i>Candida cylindracea</i>	Lipase OF 360	<i>Meito Sangyo</i>
<i>Pseudomonas sp.</i>	Lipase LP1	<i>Amano</i>
<i>Choromabacterium viscosum</i>	Lipase T-01	<i>Toyo Jozo</i>

\* *imobilizada em resina aniônica.*

A produção de monoglicerídeos a partir da glicerólise do óleo de oliva<sup>183</sup> ou palma<sup>184</sup> foi obtida com sucesso empregando enzimas imobilizadas.

Estes produtos são emulsificantes importantes para a indústria cosmética e farmacêutica. Além disso, a glicerólise enzimática é um método limpo e pode partir do glicerol que é obtido como subproduto da alcoólise de óleos vegetais.

Segundo Oliveira<sup>185</sup>, o emprego de enzimas imobilizadas facilita o desenvolvimento de processos contínuos realizados em escala industrial. Além disso, quando a biocatálise ocorre em solvente orgânico, as enzimas livres tendem à agregação nas paredes do reator, o que é minimizado com a imobilização. A imobilização da enzima em suportes sólidos também diminui o efeito desnaturante de alguns solventes sobre as enzimas.

A biocatálise por lipases, comparada aos catalisadores químicos, gera uma grande variedade de produtos com diferentes composições e propriedades que

dependem da especificidade ou estereoespecificidade da lipase<sup>186</sup>.

Algumas lipases têm sido observadas em meio orgânico e apresentam alta regioesletividade e esterosletividade. Outras não são específicas com relação à posição da ligação éster na molécula de glicerol ou à natureza do ácido graxo.

## 1.11 ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

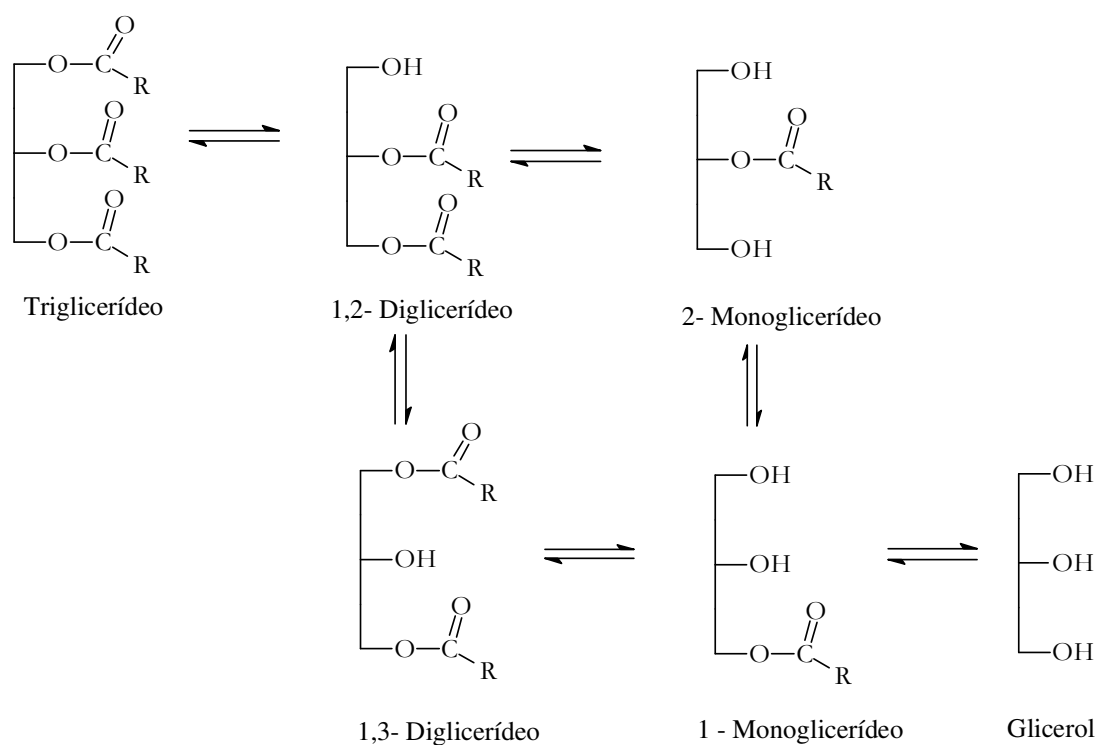
Para realizar a alcoólise, as enzimas mais empregadas são obtidas dos fungos *Aspergillus*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, das leveduras *Torulopsis* e *Candida* e das bactérias *Pseudomonas*, *Achromobacter* e *Staphylococcus*<sup>187</sup>.

A lipase extraída da *Candida antarctica*, é uma lipase não específica, comercialmente empregada para produção de vários tipos de ésteres<sup>186</sup>.

Gao *et al*<sup>188</sup> explorou espécies de *Pseudomonas* para a produção de novas lipases, elas exibem alta versatilidade, reatividade e estabilidade em meio orgânico. As lipases, foram caracterizadas em meio aquoso e não aquoso e aplicadas em reações de glicerólise para produção de monoglicerídeos e na alcoólise.

Células inteiras de *Rhizopus oryzae* foram imobilizadas e empregadas como biocatalisadores na transesterificação de óleos vegetais. Neste estudo de Ban e colaboradores<sup>189</sup>, foi possível mais de 90% de conversão em ésteres quando 30% de água foi adicionado ao meio. Todavia, para o emprego em nível industrial, ainda são necessários estudos de estabilidade do biocatalisador.

Como esta enzima é regioespecífica, os autores puderam propor que a conversão de 90% do triacilglicerol em um sistema contendo água é resultado da migração espontânea dos grupos acila, à medida que vai ocorrendo a reação nas posições 1 e 3 do glicerol, da mesma forma que Fureby *et al*<sup>190</sup> (Figura 21).



**Figura 21:** Reações de migração do grupo acila que podem ocorrer durante o processo catalisado por uma lipase regioespecífica.

Os ésteres de ácidos graxos, originários de diferentes óleos vegetais, têm sido utilizados em substituição ao diesel, como um produto menos agressivo ao meio ambiente, chamado biodiesel.<sup>191</sup>

O biodiesel obtido por alcoólise enzimática foi estudado por Nelson e Foglia<sup>192</sup> a partir do óleo de soja, colza e oliva, empregando o etanol, isopropanol, 2-butanol e metanol.

Darnoko e Cheryan<sup>193</sup> verificaram que a alta conversão dos acilgliceróis é um fator importante para que o produto de alcoólise possa ser utilizado como biocombustível, sendo necessário para tanto, separar o glicerol resultante da reação.

Alguns anos depois, Iso *et al*<sup>194</sup> também avaliaram diferentes álcoois como substrato na transesterificação. Neste estudo, foram utilizados o metanol, 1-propanol, etanol e 1-butanol. Com a lipase de *Pseudomonas fluorescens* foi avaliada a atividade enzimática após usos repetidos a 50°C e 1 hora de reação. Os autores

concluíram que a partir da segunda e terceira utilizações a atividade decaiu.

Outros estudos de transesterificação também foram realizados com óleo de girassol<sup>195</sup>, colza<sup>196</sup> e palma<sup>54</sup>, empregando álcoois primários.

O 2-etil 1-hexanol foi utilizado na transesterificação do óleo de colza, obtendo-se 98% de conversão após 24h utilizando-se *Candida rugosa*, *Chromobacterium viscosum*, *Pseudomonas fluorescens* e 45 % *Rhizomucor miehei*<sup>196</sup>.

As reações de alcoólise enzimática realizadas empregando etanol como substrato (etanólise enzimática), assim como com outros álcoois, são realizadas em solventes não aquosos, compatíveis com a enzima a ser utilizada. Por essa razão, a seleção do solvente é extremamente importante para manter as propriedades catalíticas da enzima. Segundo Ottolina e colaboradores<sup>197</sup>, o solvente pode interagir especificamente com a enzima, o que foi comprovado com o emprego de solventes enantioméricos.

Além disso, a polaridade do solvente afeta fortemente a razão de produção dos ésteres, sendo os mais hidrofóbicos relacionados à maior atividade das lipases.

Por outro lado, a síntese de ésteres é favorecida em baixo conteúdo de água. A adição de água no meio reacional é relevante para a reversibilidade da atividade da lipase<sup>198,199</sup>. Contudo, o teor de água no meio reacional tem sido controlado para manter a atividade e estabilidade da lipase. Assim, a água pode ser removida do meio reacional pela adição de sais hidratados como sulfato de sódio e carbonato de sódio que tamponam a sua concentração.

Há, entretanto, enzimas que não são sensíveis à mudança de concentração de água no meio reacional como a *Lipozyme IM* da *Novo Nordisk*<sup>182</sup>.

Todavia, o conteúdo de água e a temperatura devem ser apropriadamente balanceados para alcançar estabilidade e atividade ótimas<sup>185</sup>.

Entre os solventes empregados para reações catalisadas por lipases, estão incluídos o benzeno, tolueno, n-hexano, cicloexano, heptano, octano, isooctano, nonano, éter de petróleo, triacetina, acetona, tetracloreto de carbono, clorofórmio, acetato de etila<sup>200</sup>.

Para o óleo de algodão, também foi possível realizar a alcoólise livre de solvente. Este estudo foi realizado a 50<sup>0</sup>C por 7 horas, utilizando 30% de enzima com relação à massa de óleo e óleo-álcool na proporção de 1:4. A máxima conversão obtida foi de 91,5%<sup>201</sup>.

Uma grande aplicabilidade da alcoólise enzimática é no enriquecimento de ácidos graxos poliinsaturados nos acilgliceróis do óleo de peixe. Isto se dá pelo emprego de lipase de *Pseudomonas*, a qual, juntamente, com etanol converte os ácidos em ésteres etílicos, com exceção dos ácidos poliinsaturados (PUFAs), deixando-os enriquecidos nos acilgliceróis<sup>202</sup>.

### 1.11.1 ETANÓLISE ENZIMÁTICA

Na etanólise enzimática tri, di e monoglicerídeos são convertidos aos ésteres etílicos correspondentes dos ácidos graxos presentes no óleo e em glicerol. O glicerol pode ser separado e os ésteres utilizados como biodiesel.

Comparativamente aos outros ésteres que podem ser formados, como éster metílico, isopropílico ou butílico, o éster etílico apresenta como vantagem a facilidade de sua obtenção, pois os substratos da etanólise, óleo e etanol, são matérias-primas obtidas em grande escala de culturas agrícolas já estabelecidas no país.

A massa de éster produzida é aproximadamente igual a quantidade de óleo que reage, pois em torno de 10% de etanol reage e 10% de glicerol são removidos.

Assim, os ésteres etílicos formados representam 78% de carbono, levando à produção de 40,7 mJ kg<sup>-1</sup>, para um produto com densidade 0,876 kg L<sup>-1</sup> 20<sup>3</sup>.

Os ésteres etílicos dos óleos de dendê, babaçu, rícino, piqui e algodão são apresentados na Tabela X.

**TABELA X** - Características físico-químicas dos ésteres etílicos de várias espécies vegetais produzidos no Brasil.

Características	Ésteres etílicos dos óleos					Óleo de rícino	Óleo diesel
	Rícino	Babaçu	Piqui	Dendê	Algodão		
Poder calorífico (kcal kg <sup>-1</sup> )	9046	9440	9590	9530	9520	8913	10824
Ponto de névoa	-6	-6	8	6	nd	10	1
Índice de cetano	nd	65	60	nd	57,5	nd	45,8
Densidade a 20°C (g mL <sup>-1</sup> )	0,9190	0,8865	0,8650	0,8597	0,8750	0,9578*	0,8497
Viscosidade a 37,8°C (cSt)	21,6	3,9	5,2	6,4	6,0	285	3,04
Inflamabilidade (°C)	208	nd	186	nd	184	nd	55
Ponto de fluidez (°C)	-30	nd	5	nd	-3	nd	nd

\* densidade medida a 25°C

Fonte: Costa Neto, 2000

Entre as propriedades medidas destaca-se o ponto de névoa<sup>h</sup>, que para os respectivos óleos *in natura* corresponde a valores de 10 a 30, enquanto os ésteres etílicos estão apresentados de -6 a 8, mais próximos do valor encontrado para o óleo diesel.

<sup>h</sup> Temperatura inicial de cristalização do óleo.

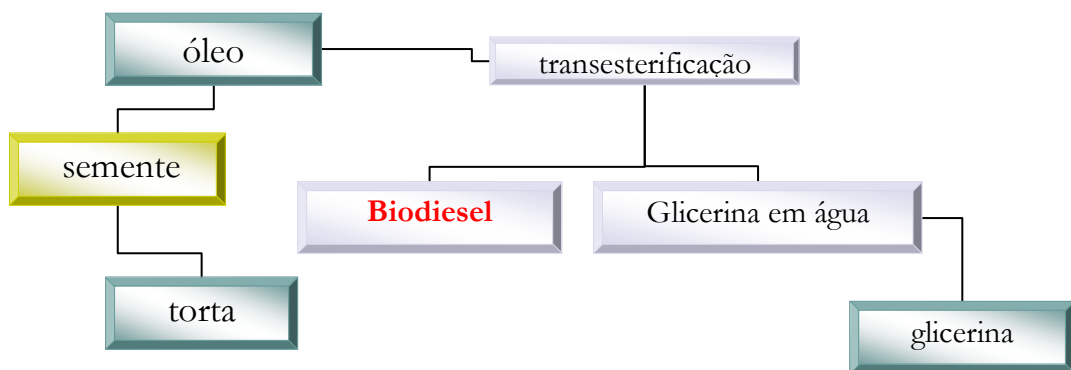


Outro fator é a considerável redução da viscosidade dos ésteres etílicos com relação aos óleos. No caso do éster etílico do óleo de rícino, a viscosidade é reduzida de 285 cSt para 21,6 cSt<sup>204</sup>.

### 1.11.2 BIODIESEL

Biodiesel, já produzido industrialmente por transesterificação, conforme Figura 22, é o nome dado para combustíveis produzidos de óleos vegetais, gorduras e ácidos graxos. São considerados renováveis e a maioria é obtida a partir de culturas agrícolas sazonais.

O emprego do óleo vegetal pode ser *in natura* ou modificado. Um grupo de pesquisadores brasileiros ligados ao Programa Nacional de Óleos Vegetais realizou testes com os óleos *in natura* de macaúba, pinhão-manso, indaiá, buriti, piqui, soja, cotieira, tinguí e pupunha, mamona e babaçu<sup>204</sup>.



**Figura 22:** Esquema de produção de biodiesel.

Segundo Costa Neto e colaboradores<sup>204</sup>, “do poder calorífico dos (bio) combustíveis depende a potência máxima a ser atingida pelo motor em operação, enquanto o índice de cetano define o poder de auto inflamação e combustão do óleo. Seu valor condiciona o desempenho global do motor, refletindo na partida a

frio, ruído e gradiente de pressão. Comparados ao óleo diesel, os óleos vegetais apresentam menor calor de combustão e índice de cetano similar.”

Assim o óleo *in natura* exige a adaptação dos motores. Os óleos modificados por craqueamento catalítico ou pirólise, visando à produção de hidrocarbonetos, ou transesterificação podem ser utilizados diretamente nos motores convencionais.

Geralmente a pirólise ou craqueamento catalítico exigem mais energia do que a transesterificação. Ao mesmo tempo, o mecanismo de decomposição térmica de triacilgliceróis é complexo, gerando uma mistura de compostos.

De acordo com Srivastava e Prasad<sup>205</sup>, o biodiesel também pode ser obtido por microemulsão do metanol no óleo vegetal ou mesmo pela diluição dos óleos vegetais em diesel ou solventes.

As utilizações do biodiesel, produto de transesterificação, ocorrem misturadas com o óleo diesel ou puro<sup>206</sup>.

Uma lista de óleos com potencialidade para serem utilizados como biodiesel foi descrita por Kalayasiri e colaboradores<sup>207</sup>.

Por muitos anos, os combustíveis derivados do petróleo foram utilizados extensivamente. Apenas com as crises do petróleo das décadas de 1970 e 1980 foi que iniciaram as pesquisas com fontes renováveis. Atualmente é uma necessidade imposta pelo *Protocolo de Quioto*<sup>i,208</sup> que versa sobre a utilização de biodiesel nos veículos a óleo diesel, para diminuir a emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa.

---

<sup>i</sup> Em 1979 houve a primeira Conferência Mundial sobre o clima; desde então houve uma evolução. Em 1990 ocorreu a segunda conferência; e em 1994, 1995 e 1996, convenções das partes que fizeram uma previsão dos compromissos que seriam criados na Convenção de Quioto, em 1997. “De acordo com o Protocolo, os países industrializados se comprometem a reduzir, entre 1998 e 2002, suas emissões de gases de efeito estufa em pelo menos 5% dos índices de 1990, no período de 2008-2012, o que equivale a uma redução real de 5,2%, em média.” “O Brasil ratificou o Protocolo em julho de 2002.”<sup>208</sup>

As iniciativas dos diferentes países foram também um chamado para um compromisso ambiental com relação à qualidade do ar, pois a substituição dos combustíveis convencionais por biodiesel diminuiria as emissões atmosféricas. Sabe-se que a emissão de CO<sub>2</sub> do biodiesel é 8,7% menor que a do óleo diesel, sendo que há um equilíbrio entre a emissão de CO<sub>2</sub> pelo biodiesel e a fixação de carbono na fotossíntese realizada pelas plantas. Em 1998, já estimavam que 4,2 unidades de energia eram produzidas na utilização do biodiesel enquanto que na sua produção era exigida uma unidade de energia. Em acréscimo, a substituição do diesel por biodiesel corresponde a uma redução de 15 a 20% de energia empregada no processamento do combustível<sup>203</sup>.

Quanto às emissões de NO<sub>x</sub> pelo biodiesel, os valores são semelhantes aos do óleo diesel. Segundo a normatização<sup>j</sup> da qualidade do produto final, o biodiesel também deve ser praticamente livre de enxofre, o que corresponde a um grande benefício para o meio ambiente.

Os óleos, ao serem empregados como biodiesel, devem apresentar propriedades semelhantes às do óleo diesel e conforme padronização do biodiesel alemão pela E DIN 51606, o índice de cetano (CN) maior que 49%, viscosidade de 3,5 a 5,0 mm<sup>2</sup> s<sup>-1</sup> e densidade a 15°C de 0,875 a 0,900 g mL<sup>-1</sup> <sup>209</sup>.

Na Malásia, está sendo avaliado o desempenho do óleo de palma para a produção de biodiesel. Nas misturas de 7,5 a 15% de éster metílico do óleo de palma com óleo diesel, foram constatadas as reduções nas emissões de CO, CO<sub>2</sub>, HC, NO<sub>x</sub>, SO<sub>x</sub> e material particulado. Ao mesmo tempo, verificaram que as propriedades físico-químicas do biodiesel de óleo de palma equivalem-se aos produtos similares provenientes do óleo de soja e de colza<sup>210</sup>.

---

<sup>j</sup> Alemanha (E DIN 51606); Europa (EN 14214), Estados Unidos (ASTM D6751-02)

O biodiesel do óleo de palma e de coco nigeriano foi obtido empregando a lipase PS 30 da *Amano Enzyme*. Estes produtos apresentaram qualidade superior ao biodiesel produzido na Malásia e Estados Unidos<sup>211</sup>.

No Brasil, existem estudos com relação à produção de biodiesel e tem-se conhecimento da sua utilização na frota de ônibus da cidade de Curitiba no Paraná<sup>212</sup>.

Em outros estudos, Haas *et al*<sup>213</sup> sugeriram a utilização do *soapstock* para a produção de biodiesel, dando mais um aproveitamento a este resíduo do refino de óleos vegetais. O *soapstock* pode ser utilizado para este fim porque contém uma mistura de glicerídeos, ácidos graxos livres e sais de sódio e potássio, derivados dos ácidos graxos dos óleos.

Uma outra iniciativa relevante é a produção do biodiesel do óleo existente nos materiais adsorventes empregados para clarificação do óleo durante o refino. Na pesquisa desenvolvida no Japão por Pizarro e Park<sup>214</sup>, foram utilizadas as terras de clarificação com, aproximadamente, 40% em massa de óleo de soja, palma ou colza.

## 1.12 MÉTODOS INSTRUMENTAIS APLICADOS À OLEOQUÍMICA

Na oleoquímica a matéria-prima é um óleo rico em triacilgliceróis ou um óleo essencial. Os triacilgliceróis são componentes majoritários nos óleos vegetais e exigem métodos analíticos instrumentais que reconheçam particularidades como posição do ácido graxo no glicerídeo, grau de insaturação, isomerização, teor de hidroxilas, acetilas, epóxidos e outros.

Geralmente estas análises podem ser classificadas como análise quantitativa

clássica ou instrumental. A análise quantitativa clássica envolve métodos por via úmida, tais como, titrimetria e gravimetria. Já na análise instrumental, é possível obter-se mais informações dos óleos e derivados, em um nível mais elevado de exatidão e precisão, além de permitir a automação dos procedimentos.

### **1.12.1 MÉTODOS CROMATOGRÁFICOS**

Entre os métodos instrumentais, a cromatografia gasosa e a cromatografia líquida são freqüentemente os mais utilizados na análise de óleos, gorduras e derivados.

Aparício e Aparício Ruiz<sup>72</sup> apresentaram uma revisão dos métodos cromatográficos aplicados à análise de óleos vegetais, citando sistemas acoplados e métodos de alta resolução, direcionados à autenticação e caracterização de óleos.

Outras iniciativas, trataram de avaliar os compostos polares presentes nos óleos, empregando Cromatografia de Permeação em Gel (GPC) e Cromatografia por exclusão de alta eficiência (HPSEC)<sup>215</sup>.

#### **1.12.1.1 CROMATOGRAFIA GASOSA**

A cromatografia gasosa é hoje um grande aliado para a caracterização dos produtos nos estudos de extração e transformação de óleos.

Como os principais componentes dos óleos vegetais e derivados são acilgliceróis (não voláteis) e ácidos graxos (termodegradáveis), as amostras sempre necessitam de preparação. Neste caso, utilizam-se a derivatização, separação em coluna, microextração em fase sólida (SPME) e outras técnicas.

A derivatização na maioria dos estudos consiste na da produção dos ésteres metílicos ou etílicos dos ácidos graxos presentes nos acilgliceróis. Pode ser realizada por hidrólise do acilglicerol seguida de esterificação dos ácidos graxos, empregando catálise ácida ou básica, conforme os métodos:

- metanólise com tetrametilguanidina em metanol<sup>216</sup>;
- metanólise com metóxido de sódio em metanol<sup>217</sup> e com irradiação de microondas<sup>218</sup>;
- transesterificação catalisada com ácido sulfúrico<sup>219</sup>;
- metilação com diazometano para ácidos graxos livres<sup>220</sup>;
- hidrólise alcalina seguida de metilação com BF<sub>3</sub>/metanol como catalisador<sup>221</sup>.

Para hidróxi-ácidos a derivatização também é realizada com éter *terc*-butil dimetil silil (t-BDMS) e *bis*-trimetil silil acetamida (BSA)<sup>222</sup> e éter trimetilsilil pentafluor benzil (PFB-TMS)<sup>223</sup>.

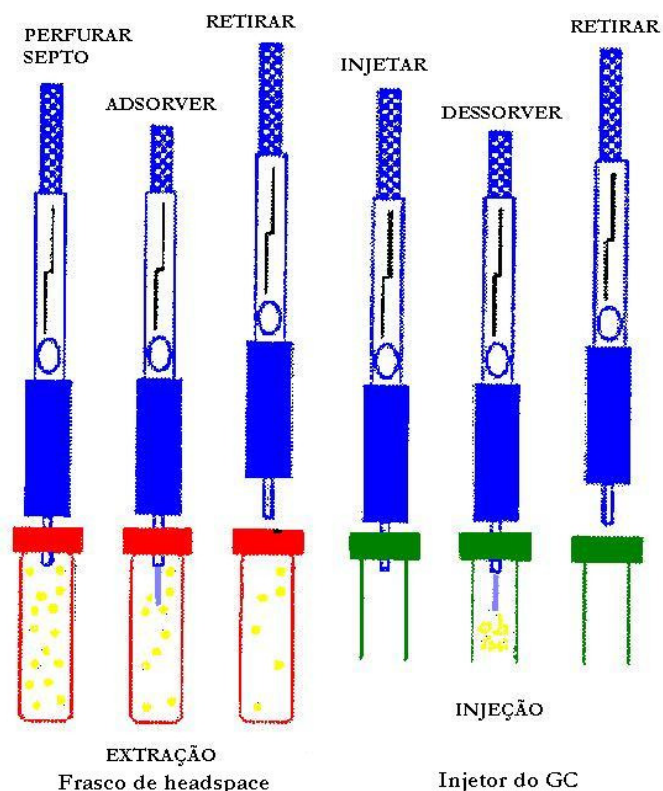
Segundo Plank e Lorbeer<sup>224</sup>, a análise de mono, di e triglicerídeos é possível por GC, entretanto há a necessidade de derivatizar os grupos hidróxi dos mono e diacilgliceróis com N-trimetil silil trifluoracetamida (MSTFA), utilizar colunas capilares mais curtas, enquanto que para os triacilgliceróis foi necessário o aquecimento da coluna a 370<sup>0</sup>C.

Análises menos freqüentes, mas relevantes, dependendo do óleo, são das ceras, as quais são ésteres de ácidos graxos com longas cadeias de álcoois. Para estes componentes da fase saponificável, existem relatos da necessidade de realizar a extração em fase sólida (SPE) com sílica gel como adsorvente antes da determinação por GC ou HPLC<sup>225</sup>.

A SPME, que pode ser utilizada para análise de compostos voláteis dos óleos, como aldeídos, álcoois, hidrocarbonetos e outros “é uma microtécnica, em

que os processos de extração e pré-concentração de analitos ocorrem numa escala dimensional que não é das mais usuais<sup>226</sup>.

Nesta técnica tem-se uma espécie de seringa (*holder*) que permite expor e retrainir uma fibra adsorvente na amostra ou no *headspace* da amostra seguido de dessorção dos componentes adsorvidos diretamente no injetor do Cromatógrafo, como mostra a Figura 23. As fibras podem ser polares (Poliacrilato, Carbowax/Divinilbenzeno), não polares (polidimetilsiloxano-PDMS) ou bi-polares (Carboxen<sup>k</sup>/PDMS) e exigem alguns cuidados especiais pois são frágeis<sup>226</sup>.



Fonte- Valente e Augusto, 2000.

**Figura 23:** Dispositivo amostrador de SPME.

Conforme Naglič e Šmidovnik<sup>163</sup>, quando o objetivo é a separação e análise de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs), monoinsaturados (MUFAs), saturados,

isômeros geométricos (*cis-trans*) e de posição por GC, é aconselhável o emprego de colunas capilares longas (100 m).

Contudo, a análise cromatográfica dos componentes do óleo, principalmente os minoritários, consiste em uma informação importante sobre a identidade do óleo, sobretudo quando se refere a esteróis, pois se considera que esta fase é a *fingerprint* das matérias graxas<sup>227</sup>, ou seja, permite uma boa separação, que favorece a identificação.

Por cromatografia gasosa ainda são analisados outros componentes minoritários como hidrocarbonetos terpênicos e aromáticos, esqualeno, hidrocarbonetos voláteis, hidrocarbonetos aromáticos de baixo peso molecular, carotenos e hidrocarbonetos policíclicos aromáticos<sup>228</sup>, tocoferóis, esteróis e álcoois<sup>77</sup>. Para estes componentes do óleo são empregados agentes silanizantes como *N*-metil *N*-trimetilsilil trifluor acetamida – MSTFA<sup>77</sup>, hexametildisilazano seguido de ácido trifluoracético<sup>229</sup>. Para determinar esteróis e esteróis esterificados também foi realizado a SPE seguida de saponificação e derivatização com *N,O*-bis-trimetilsilil trifluor acetamida (BSTFA)<sup>73,230</sup>.

Hidrocarbonetos em alguns óleos são separados em coluna empregando hexano como eluente, sílica gel como fase estacionária e analisados por cromatografia gasosa. Os hidrocarbonetos voláteis também são separados da matriz, porém por destilação de arraste de vapor com éter etílico (34<sup>o</sup>C) sob vácuo<sup>228</sup>.

A determinação de colesterol e tocoferóis em óleos vegetais pode ser realizada por cromatografia gasosa, no entanto é necessário eliminar a interferência dos acilgliceróis por transesterificação, com a mínima manipulação da amostra, para evitar a degradação dos tocoferóis. Para tanto Ballesteros, Gallego e Valcárcel<sup>231</sup>

---

<sup>k</sup> Carboxen – Carvão ativado microparticulado.



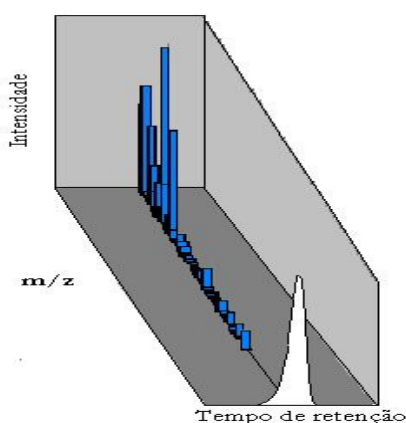
otimizaram um sistema automático para preparação da amostra e injeção no cromatógrafo.

### 1.12.1.2 CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE MASSAS

A cromatografia gasosa com detector de massas (GC-MSD) é uma grande aliada na identificação dos produtos de reação de óleos vegetais.

Na ricinoquímica, que envolve os processos de refino e transformação do óleo de rícino, a GC-MSD auxilia no reconhecimento da estrutura molecular dos produtos após a separação. Este método conjuga mais informações do que a GC, com referência a cada componente separado devido a sua natureza tridimensional<sup>232</sup> (Figura 24).

Por GC-MSD também é possível quantificar um ou mais analitos de uma mistura complexa. A quantificação pode ser realizada com base na área do total de íons detectados para o analito ou dos íons selecionados para o monitoramento.



**Figura 24:** Representação da natureza tridimensional dos dados de GC-MSD

A diferença entre o modo do cromatograma do íon total (TIC) para o do monitoramento do íon selecionado (SIM) é significativa, já que com o modo SIM é

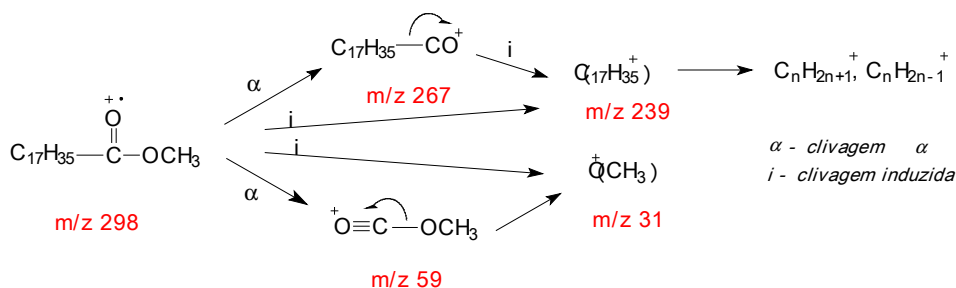
possível aumentar a sensibilidade da análise de um fator de 100 para 1000<sup>232</sup>. Por outro lado, com o modo TIC é possível caracterizar a amostra, pois, obtém-se o espectro de massas completo de cada componente que foi separado.

Por este aspecto, a GC-MSD tem sido muito utilizada para análise dos ácidos graxos presentes nos óleos vegetais.

Os ésteres metílicos derivados dos ácidos graxos (Figura 25) são facilmente identificados quando a ionização ocorre por impacto de elétrons (EI), pois seu espectro apresenta alguns íons característicos como o íon molecular ( $M^+$ ) e os que correspondem a  $m/z = M-31$  (menos metanol),  $m/z = 87$ , 143 e 199. Quando são analisados os ésteres de ácidos graxos insaturados, há uma dificuldade em avaliar a posição das insaturações, pois ocorre migração da dupla ligação quando o íon é formado, resultando em produtos intermediários que não caracterizam a fragmentação da molécula original.

Algumas alternativas para identificar os componentes são: o estudo de similaridade do espectro da amostra com os de uma Biblioteca de espectros e o emprego de espectrometria de massas com ionização química (CI).

Nesta segunda opção é possível obter mais informações com relação à posição da insaturação, pois a quantidade de fragmentação é reduzida, e diminui a migração das duplas<sup>233-234</sup>.



**Figura 25:** Mecanismo de fragmentação dos ésteres metílicos de ácidos graxos na ionização por impacto de elétrons.

### 1.12.1.3 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA

A cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) possibilita a separação de acilgliceróis que sejam isômeros de posição dos ácidos graxos no mono, di e triacilgliceróis.

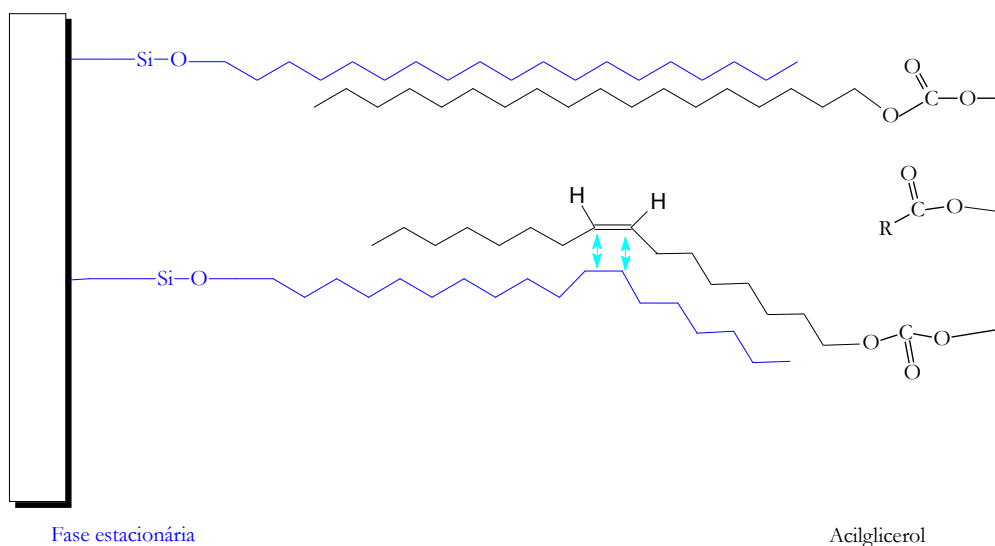
Os detectores mais adequados para avaliar os acilgliceróis dos óleos são o de Massas (MSD)<sup>235</sup> e o de Índice de Refração (IRD)<sup>236</sup>. O detector de espalhamento de luz evaporativo (ELSD) oferece algumas vantagens, pois é mais estável e sensível<sup>237</sup>.

O emprego da HPLC para análises dos acilgliceróis dos óleos e gorduras apresenta como vantagem a possibilidade de separação cromatográfica sem a necessidade de derivatização, permitindo avaliar a distribuição dos ácidos nos acilgliceróis e separar lipídios complexos, como os fosfolipídios e glicolipídios<sup>238</sup>.

Segundo Lee *et al*<sup>239</sup>, com o emprego de colunas de fase reversa C18 (octadecil) é possível separar acilgliceróis mono, di, trissaturados ou insaturados devido ao mecanismo de interação das cadeias carbônicas da fase estacionária e do acilglicerol. Assim, devido às forças repulsivas, a retenção de acilgliceróis saturados é maior do que de acilgliceróis com insaturações, como mostra a Figura 26.

No monitoramento da produção de biodiesel, a HPLC pode ser muito versátil, pois há a possibilidade de realizar gradiente de fase móvel, separando os acilgliceróis, gliceróis, ésteres e ácidos livres, além de ser possível coletar as diferentes frações ou utilizar mais de um detector<sup>240</sup>.

Em 1991, Řezanka e Mares<sup>241</sup> relataram os resultados de separação com vários óleos, sendo possível reconhecer os isômeros de posição dos acilgliceróis.



**Figura 26:** Retenção de acilgliceróis em uma fase reversa C18.

Um grande avanço na caracterização de óleos foi a criação de sistemas HPLC-GC-MS que incrementam a análise em seletividade e sensibilidade<sup>242</sup>.

### 1.12.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

Na análise de oleoquímicos, observa-se uma demanda cada vez maior para a espectroscopia no infravermelho (IR), visando à determinação de parâmetros de qualidade com rapidez, versatilidade e um mínimo de reagentes químicos.

Por espectroscopia no infravermelho, além de reconhecer os principais grupamentos presentes nas moléculas, também tem sido possível avaliar a presença de isômeros *trans* após a transformação dos óleos vegetais. Segundo Sedman e colaboradores<sup>243</sup>, o método de determinação do conteúdo *trans* de óleos é baseado na intensidade da banda isolada de absorção em  $970\text{ cm}^{-1}$ .

A análise por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) permite identificar os sinais relativos aos diferentes grupamentos da longa cadeia dos ésteres de ácidos graxos, como mostra a Tabela XI, que apresenta os

grupamentos identificados para o éster metílico do C18:0.

Atualmente já existem estudos utilizando espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier e acessório de refletância atenuada total (ATR-FTIR) para análise de óleos. Os resultados desse trabalho cooperativo de 12 laboratórios resultaram na inserção da ATR-FTIR como método oficial *American Oil Chemists' Society*, para determinação de isômeros *trans* em óleos vegetais<sup>244</sup>.

Monoinsaturados, C18:1 *trans*, apresentam sinais em 3033 cm<sup>-1</sup>, 3003 cm<sup>-1</sup>, 1126 cm<sup>-1</sup>, 971 cm<sup>-1</sup> e em 728 cm<sup>-1</sup> (muito fraca). O C18:1 *cis*, apresenta sinais em 3010 cm<sup>-1</sup>, 1124 cm<sup>-1</sup> e em 728 cm<sup>-1</sup> (larga). Dienos e trienos apresentam banda em 3018-3019 cm<sup>-1</sup> e em 727-730cm<sup>-1</sup><sup>245</sup>.

**TABELA XI** - Bandas na região do infravermelho observadas para ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa saturados.

Atribuição	Nº de onda (cm <sup>-1</sup> )
v assim CH <sub>3</sub>	2961 f
v assim CH <sub>2</sub>	2935 F
v sim CH <sub>3</sub>	2880 f
v sim CH <sub>2</sub>	2863 F
v C=O	1754 F
δ CH <sub>2</sub>	1463 m
δ CH <sub>3</sub>	1381 f
v C-O(éster)	1176 m
δ CH <sub>3</sub>	1123 f
δ CH <sub>2</sub>	727 f

*f- fraca; F-forte; m-média* *Fonte: Mossoba, et al (1990)*

Hendl e colaboradores<sup>246</sup> desenvolveram um método simples e rápido para determinar o índice de iodo, utilizando a primeira derivada dos espectros obtidos no infravermelho. Os resultados foram condizentes com os valores determinados por outras técnicas, no entanto apresenta 5% de desvio padrão relativo. Nestes estudos, para o óleo de rícino, houve uma forte interferência do OH.

Existem pesquisas que procuram reduzir para microescala, agilizar a análise, aumentar a sensibilidade e ampliar a gama de compostos que possam ser analisados por espectroscopia na região do infravermelho. Uma delas é a técnica de reflexão total atenuada horizontal (HATR), em que a amostragem é rápida e permite a obtenção de espectros de materiais espessos e fortemente absorventes.

Esta técnica caracteriza-se pelas múltiplas reflexões de radiação na região do infravermelho que ocorrem no interior de cristais, de material de alto índice de refração (ZnSe) interagindo apenas com a amostra que estiver na superfície do mesmo.

A radiação atinge a amostra e penetra poucos *microns* de profundidade; a radiação incidente pode ser absorvida, atenuando sua intensidade<sup>247-248</sup>.

A espectroscopia de refletância no infravermelho próximo (NIRS) é outra ferramenta potente para a análise qualitativa de óleos. Pelos espectros, associados a métodos de calibração multivariada, foi possível discriminar óleos de fontes diferentes e verificar a incidência de adulterantes<sup>249</sup>.

Por NIRS e quimiometria também é possível determinar a presença de isômeros geométricos, índice de saponificação e o índice de iodo de óleos<sup>250</sup>.

### 1.12.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$

A ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  ( $^1\text{H}$  NMR) e a de  $^{13}\text{C}$  ( $^{13}\text{C}$  NMR) também revelam informações importantes para o reconhecimento da estrutura orgânica de óleos e gorduras, porém são técnicas utilizadas apenas em grandes centros de pesquisa, pois estão entre os mais sofisticados métodos analíticos<sup>82</sup>.

De acordo com a técnica de  $^1\text{H}$  NMR, a integração das áreas relativas aos

prótons metílicos terminais, prótons vinílicos e prótons alílicos permitem calcular a quantidade de C18:3, C18:2 e C18:1 na mistura de acilgliceróis do óleo.

O índice de iodo, que é muito importante para estudos de hidrogenação de óleos vegetais, pode ser calculado a partir do espectro, possibilitando substituir o método titrimétrico da AOCS Cd 1d/92(97), que gera um grande volume de resíduos<sup>251</sup>.

Nos espectros de <sup>13</sup>C NMR, os sinais referentes aos carbonos vinílicos, metilênicos  $\omega$ 3, alílicos,  $\beta$ -metilênicos e carbonílicos, também são indicados para avaliar a presença de C18:3, C18:2, C18:1 e C18:0. Segundo Miyake *et al*<sup>252</sup>, a quantificação por <sup>13</sup>C NMR de ácidos graxos insaturados resultam em uma discrepância de  $\pm 5\%$  dos resultados obtidos por GC.

Quando se trata de óleo de rícino, possuidor de uma maior quantidade de ácido ricinoléico, é possível identificar sua presença em outros óleos, uma vez que apresenta sinais característicos do carbono C12 - um carbono quaternário que apresenta a hidroxila, o que o diferencia dos demais<sup>253</sup>.

Quanto à presença de isômeros geométricos e de posição das insaturações, a <sup>13</sup>C NMR apresenta versatilidade, permitindo analisar misturas complexas de óleos parcialmente hidrogenados<sup>254</sup>.

Sinais referentes a carbonos carbonílicos permitem identificar a posição dos grupos acila do glicerídeo, se na posição  $\alpha$  (1,3-acila) ou  $\beta$  (2-acila) do glicerol. Em seus estudos, Wollenberg<sup>255</sup> verificou que o deslocamento químico dos carbonos carbonílicos varia do campo mais baixo para campo mais alto, conforme as insaturações presentes na cadeia de ácidos graxos, obedecendo à ordem de C18:0 < C18:1 < C18:2 < C18:3.

### 1.13 TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO

A quimiometria consiste na aplicação de técnicas matemáticas e estatísticas na análise de dados relativos aos processos químicos industriais e laboratoriais. O modelo estatístico do método considera a correlação entre muitas variáveis analisadas simultaneamente, permitindo a extração de uma quantidade maior de informação.

Com esta ferramenta é possível identificar e minimizar problemas eventuais, como interferentes em novas amostras e variações de linha de base e/ou detectar pontos divergentes (*outliers*)<sup>256</sup>.

Também é possível manipular dados instrumentais associados a uma ou mais frequências ao mesmo tempo.

Fundamentalmente, são estabelecidas relações entre matrizes de dados químicos e/ou físicos que apresentem uma dependência entre as propriedades que descrevam estes dados.

Na literatura encontram-se relatos do emprego da quimiometria para avaliar o grau de oxidação de óleos de frituras, classificando-os a partir da técnica de agrupamento hierárquico dos valores de índices químicos e físicos das amostras<sup>257</sup>.

Esses métodos têm tornado possível extrair mais informações de métodos espectroscópicos, permitindo estimar propriedades químicas e físicas de diversas matrizes. Até mesmo, quando há sobreposição de informações espectrais de vários componentes<sup>256</sup>.

Em óleos também já foram estudados o índice de iodo, a presença de adulterantes e a natureza química, associando técnicas espectroscópicas e quimiometria<sup>258-259</sup>.



As determinações dos índices químicos de análise de óleos também são realizadas com a GC empregando quimiometria. Por Análise por Componentes Principais (PCA) foi possível classificar os óleos com relação à composição de ácidos graxos determinada por GC<sup>260</sup>.

Nesta mesma linha, foi possível auxiliar na identificação de óleos empregados em crimes, principalmente em incêndios premeditados, sendo possível avaliar a composição dos óleos vegetais presentes nas amostras, mesmo após degradação térmica. Para tanto, foi realizada a pirólise, análise por GC seguida de análise por PCA<sup>261</sup>.

A otimização de modelos de calibração a partir de informações obtidas dos espectros de amostras de óleo permitem distinguir a natureza, se animal ou vegetal, a regionalização da cultura e as classes de lipídios presentes<sup>238</sup>.

Entre as inúmeras aplicações, a literatura aborda também o controle de qualidade de alimentos<sup>262-263</sup>, solventes<sup>264</sup> e outros. Nesta tese são aplicados os métodos de análise por componentes principais e por regressão multivariada.

### **1.13.1 MÉTODO DE ANÁLISE POR COMPONENTES PRINCIPAIS**

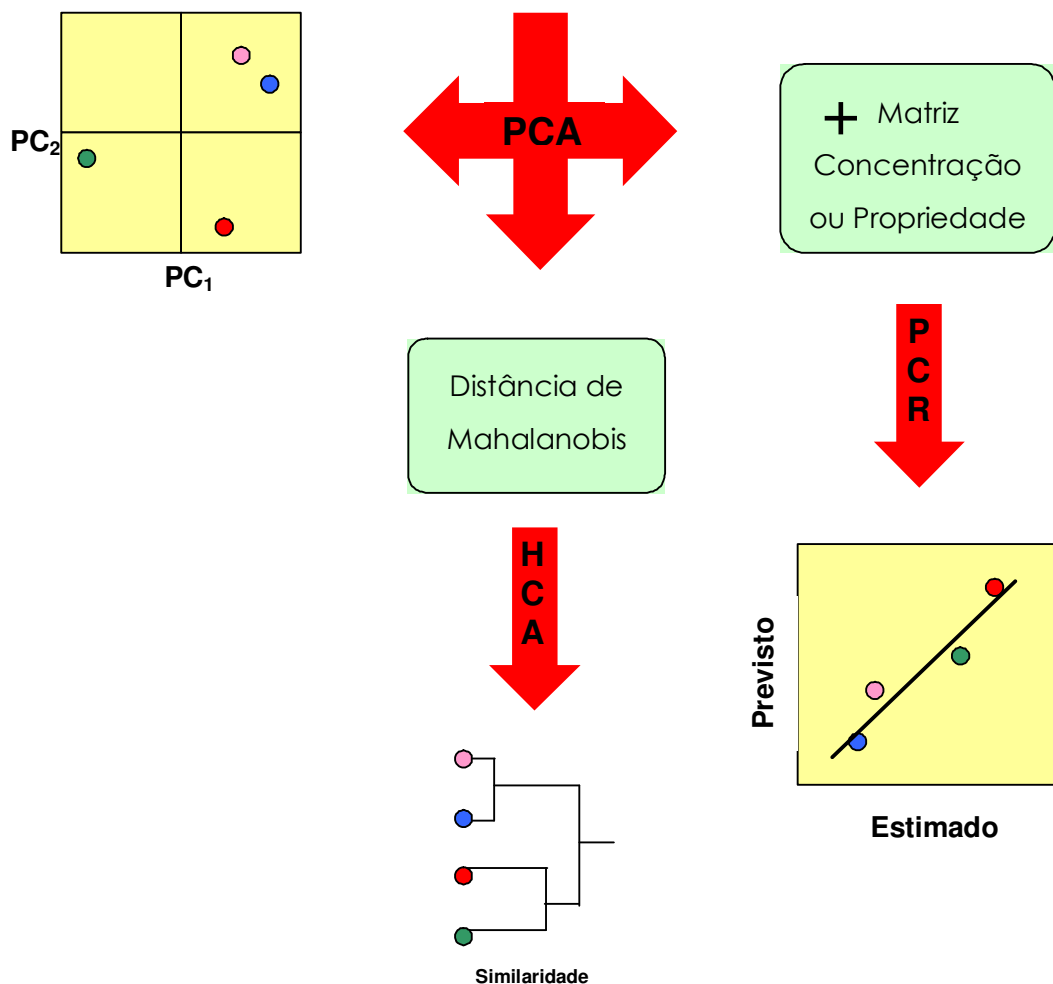
O método de análise por componentes principais (PCA – *Principal components analysis*) foi um dos primeiros recursos quimiométricos utilizados pelos químicos e continua sendo cada vez mais empregado.

Ele consiste na transformação da matriz de dados com o objetivo de representar as variações presentes em muitas variáveis por meio de um número menor de fatores.

Os dados são dispostos em uma matriz de dados onde as colunas são as

variáveis e as linhas são as amostras. Constrói-se um sistema de eixos, a partir da representação em um novo sistema de variáveis ortogonais entre si, denominados fatores principais. Neste sistema, podem-se representar as amostras, nas quais a natureza multivariada dos dados pode ser visualizada em poucas dimensões (Figura 27).

Desta forma, os dados são organizados conforme a quantidade de variação que representam. A maior parte dos algoritmos atribui em ordem decrescente a variância e assim, muitos pesquisadores aplicam a PCA a dados de espectroscopia vibracional<sup>265</sup> e de cromatografia<sup>266</sup>.



Fonte Ferrão, 2000.

**Figura 27:** Esquema das potencialidades da aplicação da PCA.

Em 2000, Ferrão<sup>256</sup> empregou, entre outros, métodos de calibração multivariada, a partir de parâmetros analíticos como teor de cinzas, umidade, proteínas e gordura, associados a técnicas espectroscópicas de reflexão, visando o controle de qualidade de farinhas<sup>267</sup>. Um estudo semelhante empregando dados espectroscópicos já havia sido feito com amostras de trigo<sup>268</sup>.

Outras matrizes como vinhos<sup>269</sup>, medicamentos<sup>270</sup>, alimentos embutidos<sup>266</sup>, *tinners*<sup>271</sup> do mesmo modo foram analisados com sucesso por PCA.

### 1.13.2 MÉTODOS DE REGRESSÃO MULTIVARIADA

A regressão tem como objetivo descrever as relações quantitativas existentes entre variáveis.

Em um primeiro momento realiza-se a calibração para um conjunto de amostras (padrões) cujas concentrações são conhecidas, onde se constrói um modelo que relaciona uma grandeza medida com a concentração da espécie de interesse; em um segundo momento, utiliza-se este modelo para prever concentrações em novas amostras<sup>256</sup>.

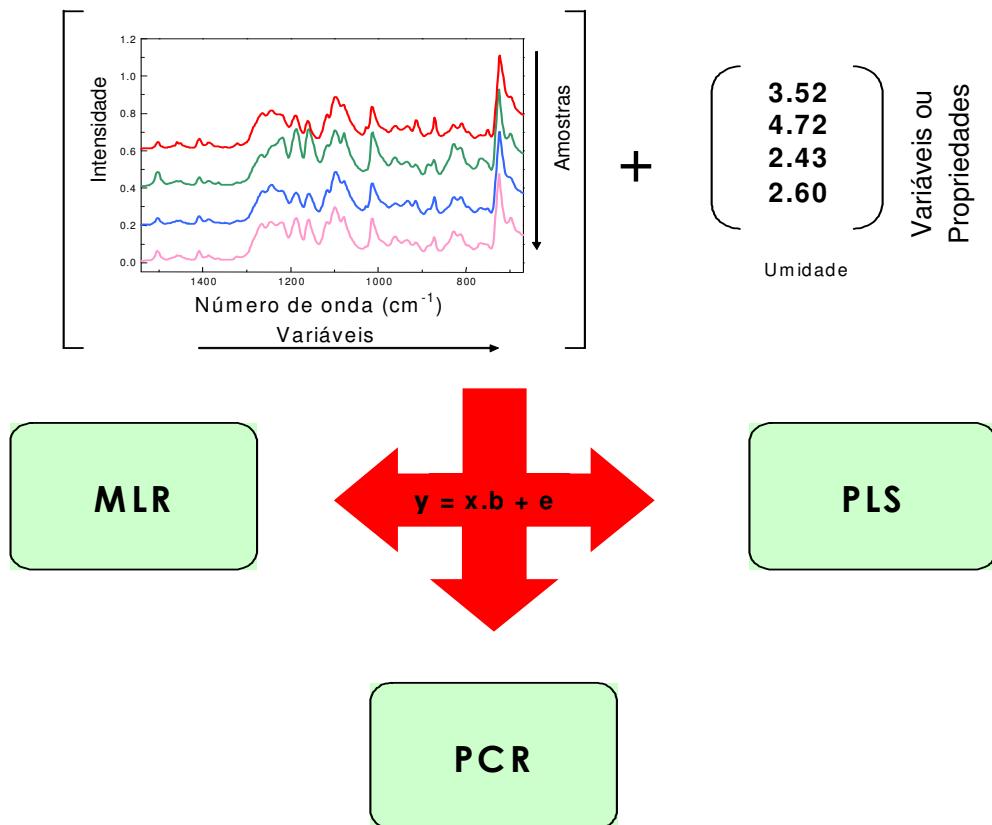
Assim a regressão multivariada permite manipular dados, geralmente instrumentais, associados a uma ou mais variáveis de interesse ao mesmo tempo.

A regressão multivariada se divide em três principais métodos: regressão linear múltipla (MLR – *Multiple Linear Regression*), regressão por componentes principais (PCR – *Partial Components Regression*) e por mínimos quadrados parciais (PLS – *Partial Least Squares*), apresentados na Figura 28<sup>272</sup>.

O método MLR visa à combinação linear entre as variáveis independentes (espectros) e as variáveis dependentes (propriedade). O PCR segue um caminho

semelhante ao PCA para decompor a matriz de dados e depois relaciona os resultados do PCA com a variável dependente.

O PLS descreve as relações existentes entre duas ou mais variáveis. As variáveis dependentes e independentes são usadas ao mesmo tempo na fase de calibração. São utilizadas, principalmente, quando os componentes presentes em uma mistura precisam ser determinados, porém a informação analítica disponível não contém seletividade, isto é, não é possível a identificação de cada componente separadamente<sup>256</sup>.



Fonte Ferrão, 2000 modificado.

**Figura 28:** Esquema da calibração multivariada empregando os algoritmos de regressão linear múltipla (MLR), regressão por componentes principais (PCR) e regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

Neste caso, é estabelecida a correlação entre duas matrizes de dados químicos. A correlação entre dois blocos de dados se dá por uma relação linear obtida pelo coeficiente de regressão linear. Para isso, um dos blocos é considerado a variável dependente.

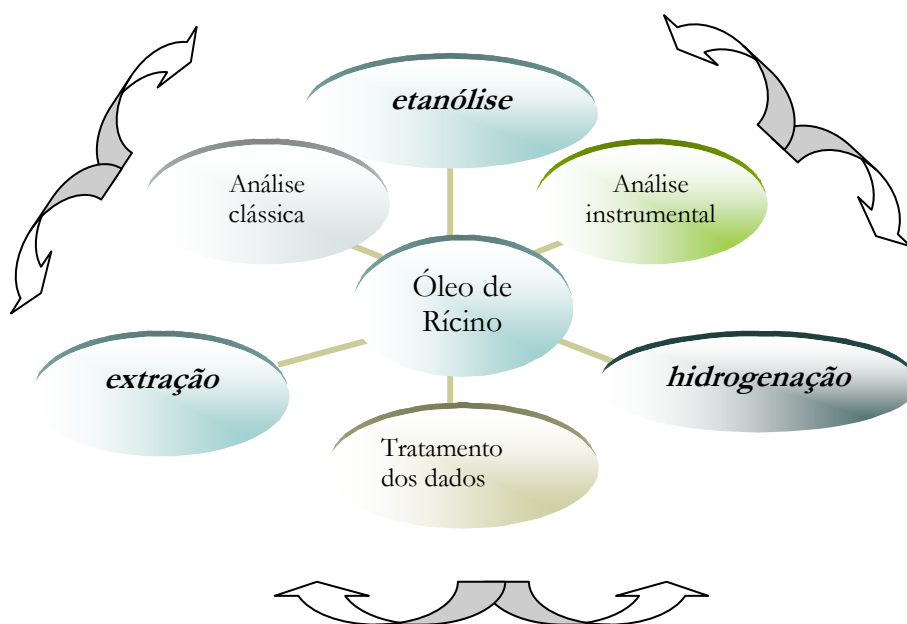
O resultado destes métodos corresponde à equação proveniente da regressão empregada (Figura 28), sendo  $y$  uma estimativa da propriedade de interesse (variável dependente),  $x$  as medidas instrumentais (variáveis independentes),  $b$  os coeficientes de regressão e  $e$  o resíduo da modelagem.

## **2 PARTE EXPERIMENTAL**



## 2.1 DELINEAMENTO DA PESQUISA

Os estudos foram realizados visando à extração, caracterização e transformação do óleo de rícino. Desta forma, a metodologia foi subdividida em extração, métodos de análise quantitativos clássicos, métodos de análise instrumentais, hidrogenação, etanólise enzimática e tratamento quimiométrico dos dados (Figura 29).



**Figura 29:** Esquema da metodologia de trabalho.

## 2.2 SOLVENTES, REAGENTES E GASES

Os reagentes reagentes e solventes utilizados estão mostrados na Tabela XII.

**TABELA XII** -Especificação dos principais reagentes e solventes usados nos experimentos de extração, caracterização e transformação.

Reagentes/solventes	Marca	Pureza (%)
<b>Extração</b>		
Hexano	Nuclear	96,0
Etanol	Synth	99,5
Isopropanol	Nuclear	99,5
<b>Análise</b>		
Acetonitrila	Merck	99,8 ( p/ análise cromatográfica)
Acetona	Mallinckrodt Backer	p/ análise de pesticida
n-Hexano	Merck	99,0
Clorofórmio Deuterado	Aldrich	99.8%
Metanol	Merck	99,5
Sílica gel 60 (70-230mesh)	Merck	-
Benzeno	Merck	99,7
Acetato de etila	Merck	99,5
Sulfato de sódio anidro	Merck	-
Diclorometano	Merck	99,5
<b>Hidrogenação</b>		
Pd/C	Merck	10% Pd
Diclorometano	Merck	99,5
n-Hexano	Nuclear	99,0
Limoneno	Dierberger	-
Cicloexeno	Vetec	99,0
Óleo de rícino	Cleveland e Delaware	-
<b>Etanólise enzimática</b>		
Etanol p. a.	Nuclear	99,5
n-Hexano	Nuclear	99,0
Enzima <i>Lipozyme IM</i>	<i>Novo Nordisk</i>	-
Enzima <i>Novozym 435</i>	<i>Novo Nordisk</i>	-



Para a identificação e quantificação da composição do óleo, utilizaram-se os padrões descritos na Tabela XIII.

**TABELA XIII** - Especificação dos padrões usados nas análises cromatográficas.

<b>Padrões</b>	<b>Marca</b>	<b>Fórmula Molecular</b>	<b>Pureza (%)</b>
<b>Ésteres metílicos do</b>			
ácido palmítico		$C_{17}H_{34}O_2$	99,7
ácido palmitoléico		$C_{17}H_{32}O_2$	99,2
ácido esteárico		$C_{19}H_{38}O_2$	99,9
ácido oléico		$C_{19}H_{36}O_2$	99,9
ácido linoléico		$C_{19}H_{34}O_2$	99,9
ácido linolênico		$C_{19}H_{32}O_2$	98,5
ácido araquídico	Supelco	$C_{21}H_{42}O_2$	99,9
ácido eláidico		$C_{19}H_{36}O_2$	99,9
ácido <i>cis</i> -6-pretroselínico		$C_{19}H_{36}O_2$	99,8
ácido vaccenico		$C_{19}H_{36}O_2$	98,2
ácido lignocérico		$C_{25}H_{50}O_2$	99,9
ácido docosanóico		$C_{23}H_{46}O_2$	99,3
ácido mirístico		$C_{15}H_{30}O_2$	99,8
ácido eicosenóico		$C_{21}H_{40}O_2$	99,9
<b>Outros</b>			
ácido ricinoléico		$C_{18}H_{34}O_3$	99,0
éster etílico do ácido ricinoléico		$C_{20}H_{38}O_3$	99,0
éster metílico do ácido ricinoléico		$C_{19}H_{36}O_3$	99,0
éster metílico do ácido hidróxi- esteárico	Sigma	$C_{19}H_{38}O_3$	99,0
éster metílico do ácido ricinoelaídico		$C_{19}H_{36}O_3$	99,0
stigmasterol		$C_{29}H_{48}O$	-
$\gamma$ -sitosterol		$C_{29}H_{50}O$	-
fucosterol		$C_{29}H_{48}O$	-

Os reagentes como sais, ácidos e bases empregados nas etapas de extração, reação, separação e análise, eram puros e de grau analítico, e os solventes utilizados na análise cromatográfica também eram puros e da marca Merck ou equivalente. Os gases utilizados nos cromatógrafos, na extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão e na hidrogenação estão especificados na Tabela XIV.

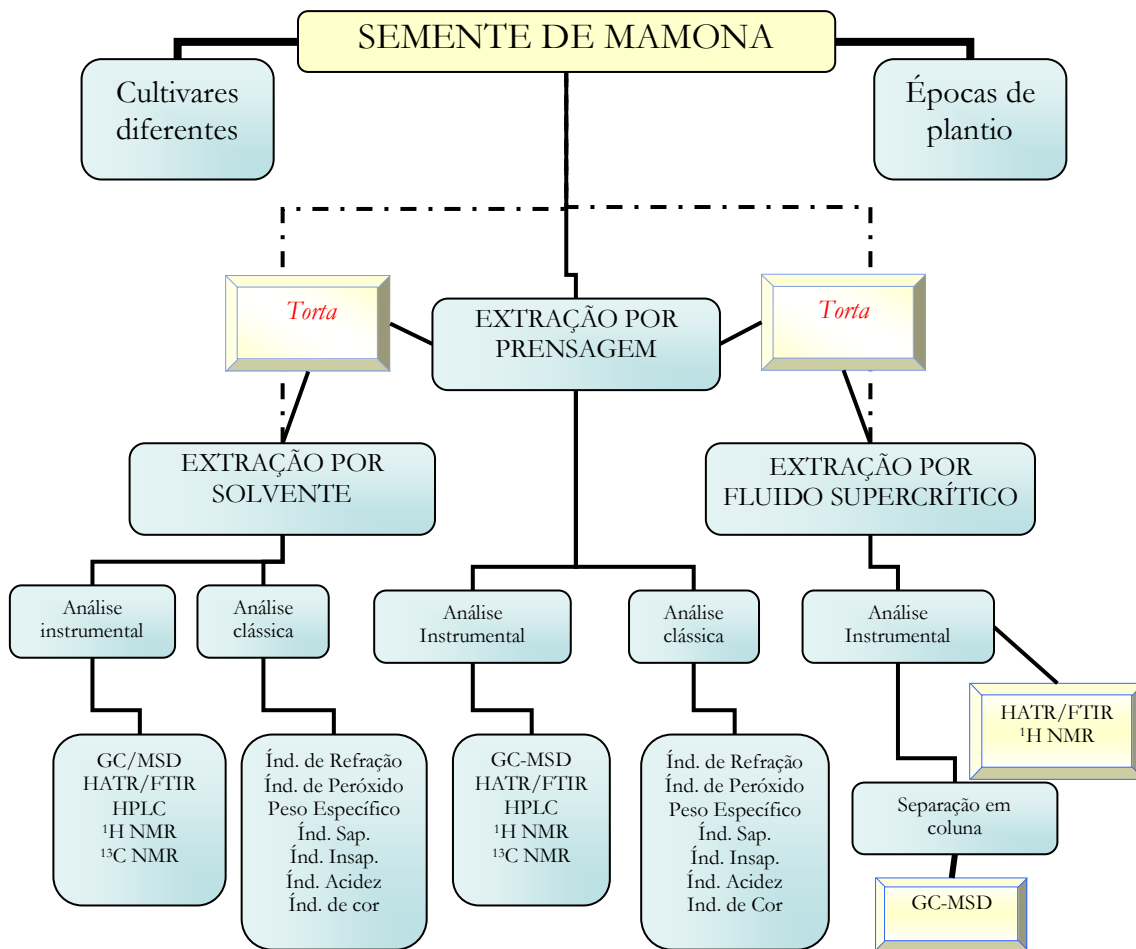
**TABELA XIV** - Especificação dos gases usados nos experimentos.

<b>Gás/função</b>	<b>Procedência</b>	<b>Pureza(%)</b>
Hélio/ gás de arraste		99,999
Nitrogênio/ gás de arraste		99,999
Ar/ comburente para a chama		99,997
Hidrogênio / combustível para a chama	White Martins	99,995
Hidrogênio / reagente para hidrogenação		99,995
Dióxido de carbono / fluido para extração		99,995

## 2.3 EXTRAÇÃO

Os estudos de extração envolveram métodos de extração em escala laboratorial. Realizou-se a prensagem a frio, extração por solvente e extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão (Figura 30).

Das amostras de óleo extraídas por prensagem e por solvente determinaram-se: índice de refração, peso específico, índice de acidez, de insaponificáveis, de saponificáveis, de iodo e de peróxido, segundo os métodos oficiais da *American Oil Chemists' Society* (AOCS). Na extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão, a análise dos extratos foi realizada apenas por métodos instrumentais devido ao volume reduzido de extrato obtido nos experimentos.



**Figura 30:** Fluxograma da extração.

### 2.3.1 AMOSTRAGEM

As amostras de semente de mamona empregadas nos estudos de extração foram originárias da região do Vale do Rio Pardo e cultivadas pela Poliagro Comércio e Representações Ltda em parceria com a UNISC e UFRGS, ilustrados no ANEXO C. Os cultivares de *Ricinus communis* L. foram originários de estudos agrônômicos realizados em outras regiões do Rio Grande do Sul. Dentre as cultivares coletadas entre 1999 a 2002, estavam a T1 (Tarabaí), G1 (Guarani), S80, IAC 226 (do Instituto Agrônômico de Campinas), C1, D26 e B9 (Tabela XV).

**TABELA XV** - Identificação das amostras de semente utilizadas.

PERÍODO	CULTIVAR	PROPRIEDADE	NÚMERO no Herbário HCB (UNISC)
1998/1999	T1	1	02239
		2	
		3	
	B9	2	-
		3	-
		4	-
1999/2000	D26	1	-
	G1	5	02238
		6	
	T1	5	02239
	S80	5	-
	C1	7	02237
IAC 226	5	-	
2000/2001	T1	8	02239
	C1	8	02237
	S80	8	-
	G1	8	02238
2001/2002	G1	9	02238
	T1	9	02239
	C1	9	02237

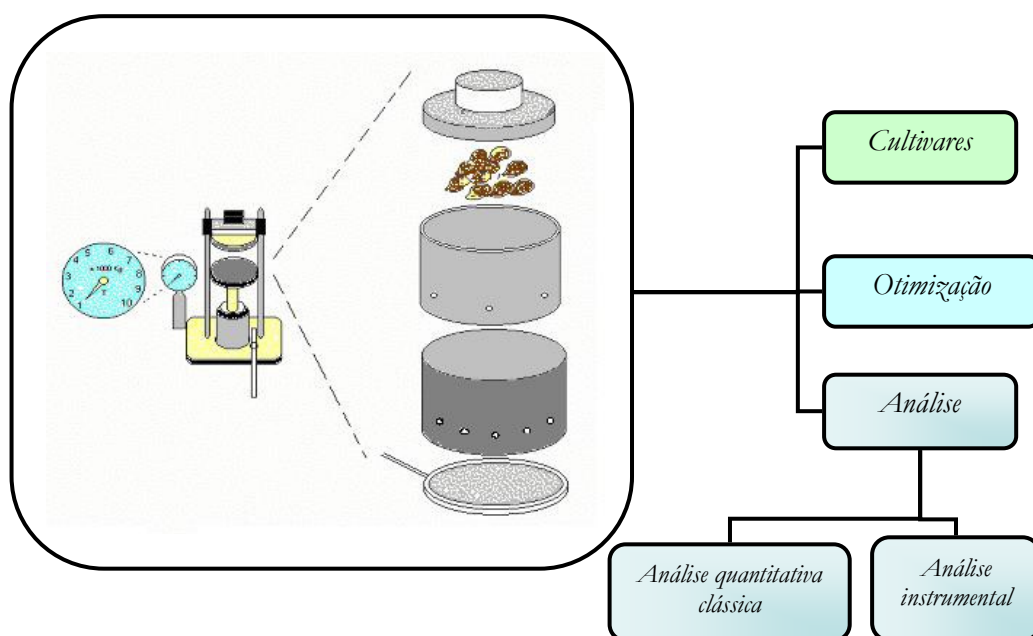
Do estudo agrônômico de 1999/2000, receberam-se amostras referente ao estudo de épocas de plantio. As sementes foram plantadas em novembro e dezembro de 1999, com intervalos de 7 dias, conforme as identificações das amostras de *A* a *F*. Os cultivares C1 e T1 foram utilizados neste estudo.

A coleta das amostras realizada pela empresa correspondia ao período em que dois terços do cacho estivesse com os grãos secos. O período de secagem foi realizado na lavoura sob exposição ao sol, e em laboratório foram descascadas e selecionadas. A determinação da umidade das sementes foi realizada em Balança de Umidade Metler a temperatura de 110 °C por 90 min.

### 2.3.2 EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM

Para fins de definição da pressão a ser exercida no processo de extração por prensagem, realizou-se a avaliação do óleo extraído com pressões de 2000 a 6600 psi. O estudo foi acompanhado por determinação do índice de acidez e análise por cromatografia líquida de alta eficiência.

A extração foi realizada com cerca de 120 g de sementes que foram transferidas para o extrator<sup>1</sup> apresentado na Figura 31 e no ANEXO D.



**Figura 31:** Representação dos experimentos de extração por prensagem a frio.

As amostras foram submetidas ao aumento gradual da pressão, sendo que após a otimização do método, a pressão exercida foi de até 4000 psi, por 1 h.

Assim, o método otimizado iniciava com 2600 psi, por 4 min; o óleo era retirado e as sementes agitadas com um bastão de vidro. O mesmo procedimento foi repetido com 3300 e 4000 psi.

<sup>1</sup> Sistema construído para prensagem de 100 a 200 g de semente.

O total de óleo extraído foi centrifugado e vertido para outro recipiente previamente pesado. O cálculo do rendimento foi realizado com relação à massa de semente seca utilizada na extração.

Para a análise qualitativa e quantitativa do óleo extraído, determinaram-se o peso específico e os índices de iodo, de peróxido, de refração, de saponificáveis, de acidez, fotométrico de cor e de insaponificáveis. A caracterização do óleo foi realizada por GC-MSD, HPLC, HATR/FTIR,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR.

### 2.3.3 EXTRAÇÃO POR SOLVENTE

Empregou-se um sistema de extração contínua, do tipo Soxhlet (Figura 32) à temperatura de ebulição do solvente, por 4 horas, utilizando um balão de fundo redondo previamente pesado.

As amostras foram pesadas entre 5 a 15 g, a seguir envoltas em papel filtro qualitativo e introduzidas no extrator. Após cada experimento, foi evaporado o solvente em evaporador rotatório, seguido de secagem em estufa até peso constante.

Inicialmente, testou-se a eficiência do hexano, etanol e isopropanol, como solventes extratores.

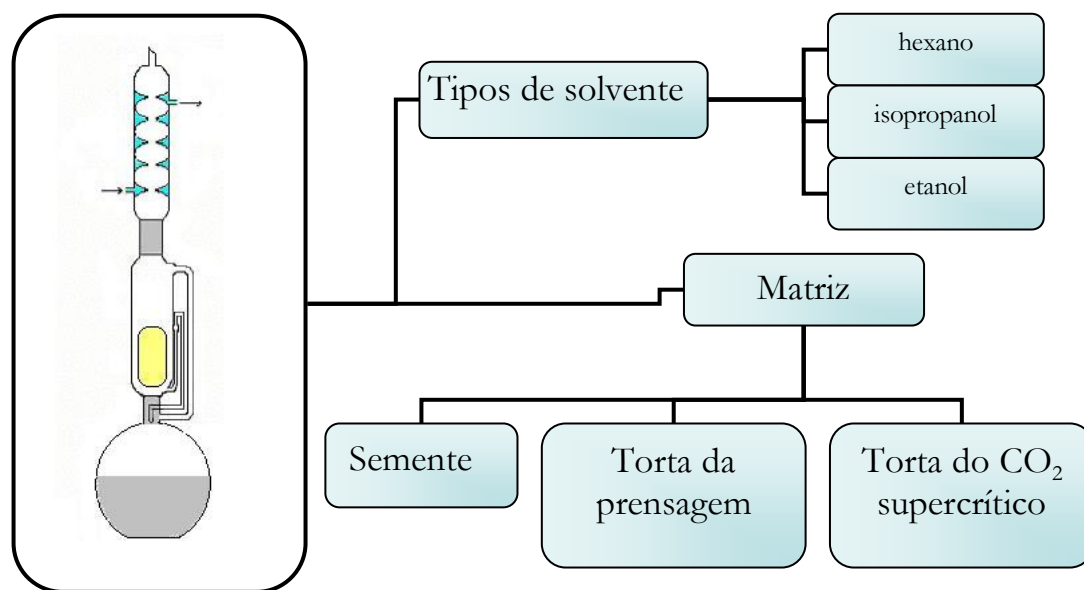
Para os estudos seguintes, as extrações dos óleos das sementes e das tortas obtidas na prensagem foram realizadas com o solvente hexano.

Quando as sementes foram empregadas diretamente na extração por solvente, sem prévia extração por prensagem, foi necessário triturá-las em liquidificador no modo pulsar, e as extrações foram realizadas por 6 horas.

O óleo extraído foi avaliado quanto aos seus parâmetros pela determinação

dos índices de iodo, índice de peróxido, índice de refração, peso específico, índice de saponificáveis, índice de acidez, índice fotométrico de cor e índice de insaponificáveis.

A caracterização química final foi realizada por GC-MSD, HPLC, HATR/FTIR,  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR.



**Figura 32:** Representação dos experimentos de extração por solvente.

### 2.3.4 EXTRAÇÃO POR CO<sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO

A extração foi realizada em um sistema de extração de CO<sub>2</sub> a alta pressão (Figura 6 – item 1.3) nas condições descritas na Tabela XVI e XVII.

Para determinar as condições de temperatura e pressão que levassem ao maior rendimento, selecionaram-se os valores de 100 e 250 bar, 20 e 50°C, os quais representam uma faixa de pressão e temperatura conforme estudo preliminar realizado com a torta e de acordo com a literatura<sup>273,274</sup>.

**TABELA XVI -** Planejamento experimental (fatorial 2<sup>2</sup>).

<b>IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA</b>	<b>NATUREZA DA AMOSTRA</b>	<b>PRESSÃO (bar)</b>	<b>TEMP. (°C)</b>
1		100/-	20/-
2		250/+	20/-
3	Torta*	175/0	35/0
4		100/-	50/+
5		250/+	50/+

*\* torta oriunda do estudo da extração por prensagem onde tortas de sementes dos diferentes cultivares foram misturadas.*

**TABELA XVII -** Experimentos com sementes e torta utilizando CO<sub>2</sub> a alta pressão.

<b>IDENTIFICAÇÃO DA AMOSTRA</b>	<b>NATUREZA DA AMOSTRA</b>	<b>PRESSÃO (bar)</b>	<b>TEMP. (°C)</b>
6	Torta do cultivar G1	175	35
7	Torta do cultivar T1	175	35
8	Torta do cultivar C1	175	35
9	Semente do cultivar G1 triturada	175	35
10	Semente do cultivar T1 triturada	175	35
11	Semente do cultivar C1 triturada	175	35
12	Semente do cultivar G1 triturada – sem tegumento	175	35
13	Semente do cultivar C1 triturada – sem tegumento	175	35
14	Torta* após extração com hexano	175	35
15	Torta* após extração com etanol	175	35

*\*torta provinda do estudo da extração por prensagem onde tortas de sementes dos diferentes cultivares foram misturadas.*

Cada experimento foi realizado por 1h 30 min, sendo separado em frações representativas de cada 30 min de extração.

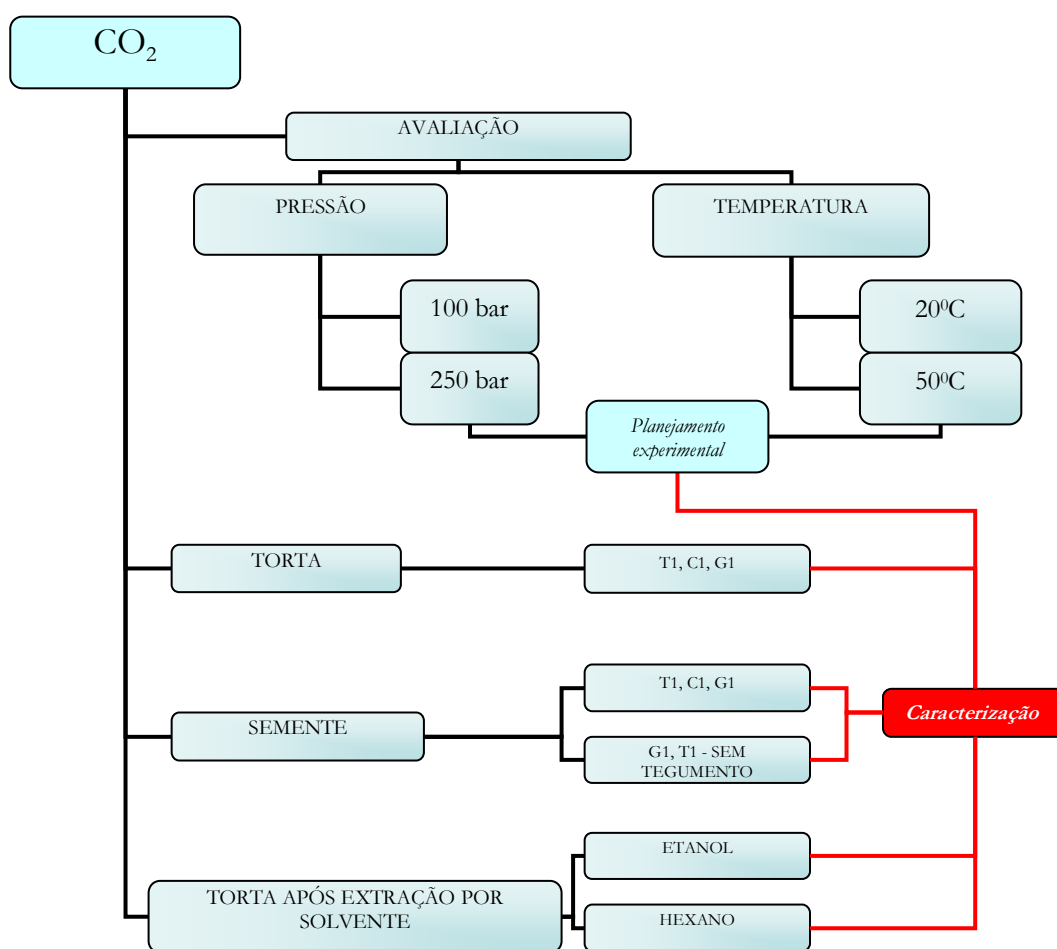
Os extratos foram pesados tendo em vista a determinação do rendimento de extração. A massa da amostra empregada em cada experimento foi de 40 g de torta ou de semente triturada.

Assim, a amostra foi pesada e introduzida no reator. O reator foi introduzido no equipamento modulado onde foram mantidas a pressão e temperatura sob



controle. A seguir a extração de cada amostra foi realizada tendo-se o cuidado de manter o fluxo de CO<sub>2</sub> constante em 2mL min<sup>-1</sup>.

As sementes empregadas nos estudos 6 a 11, foram trituradas em liquidificador, empregando o modo pulsar, até que a granulometria ficasse próxima à da torta obtida na prensagem. Para os estudos 12 e 13, utilizou-se um Processador – Mix da *Black & Decker*, no qual foi obtida a baga inteira separada do tegumento. Na Figura 33, tem-se um fluxograma representativo destes estudos de extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão.



**Figura 33:** Fluxograma dos experimentos de extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão.

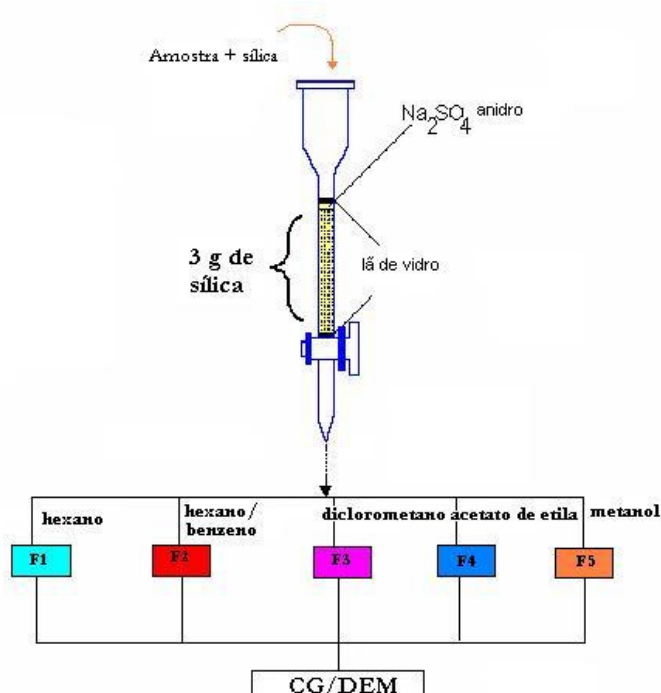
A avaliação qualitativa dos extratos brutos, obtidos a cada 30 min de extração, foi realizada, inicialmente, por espectroscopia no infravermelho (HATR/FTIR) e depois por <sup>1</sup>H NMR e a seguir por GC-MSD. Antes da análise por <sup>1</sup>H NMR, os

extratos relativos a cada 30 min de extração foram misturados.

Para a caracterização por GC-MSD, os extratos foram previamente submetidos à separação em coluna com sílica gel como fase estacionária como está descrito a seguir.

### 2.3.4.1 SEPARAÇÃO EM COLUNA

Para o fracionamento dos extratos obtidos na SFE das tortas e da semente, foi empregada a técnica otimizada por Melechi<sup>275</sup>. Como fase estacionária, foi usada sílica gel ativada durante 4h a 140°C, e n-hexano (F1), hexano-benzeno (1:1) (F2), diclorometano (F3), acetato de etila (F4) e metanol (F5) foram empregados como fase móvel conforme a Figura 34.



**Figura 34:** Esquema da separação em coluna dos extratos de  $\text{CO}_2$  a alta pressão.

O fracionamento dos extratos realizou-se em uma coluna de vidro (40 cm x 11 mm) contendo 3,0 g de sílica previamente ativada, empacotada a seco. O

volume foi preenchido com 20 mL de n-hexano.

As amostras de cada estudo foram solubilizadas em diclorometano até 1 mL. Com esta solução preparou-se uma mistura com fase estacionária. A mistura foi composta de 0,3 mL de solução da amostra com 1,0 g de sílica gel. Depois de seca e homogeneizada, foi inserida com cuidado na coluna umedecida.

Com o hexano solvente da primeira fração (F1), foram iniciadas as eluições. Cada fração foi obtida por meio da eluição de 20 mL de cada solvente.

As frações F1, F2, F3 e F5 assim obtidas foram concentradas e analisadas. Os extratos secos, representativamente, das frações F4 e F5 foram derivatizados com BF<sub>3</sub>/metanol, conforme procedimento de esterificação descrito no *item 2.5.1.1*. Importa salientar o cuidado de realizar a análise direta da F5, só após a confirmação de que não havia triacilgliceróis nesta fração.

As amostras foram analisadas por GC-MSD em coluna DB 5 (30 m x 0,25 µm x 0,25 mm). As condições cromatográficas otimizadas foram: temperatura inicial da coluna de 150<sup>0</sup>C com taxa de aquecimento de 5<sup>0</sup>C/min até a temperatura de 280<sup>0</sup>C, ficando nesta temperatura por 25 min; temperatura do injetor em 280<sup>0</sup>C; temperatura da interface em 280<sup>0</sup>C; injeção no modo *split* 1:50; fluxo da fase móvel (He) 1mL min<sup>-1</sup> e volume injetado de 1,0 µL.

## 2.4 ANÁLISE QUANTITATIVA CLÁSSICA DE ÓLEOS VEGETAIS

Os métodos de análise quantitativa clássica, juntamente com os de determinação do índice de refração e do peso específico, estão descritos a seguir.

### 2.4.1 ÍNDICE DE REFRAÇÃO - AOCS (Tp 1a-64)

Para este teste foi utilizado um refratômetro de Abbe a temperatura de 20°C. A temperatura foi mantida constante com o auxílio de um banho termostaticado. Colocaram-se uma ou duas gotas do óleo no prisma do refratômetro e visualizou-se o índice de refração. As análises foram realizadas em triplicatas.

### 2.4.2 PESO ESPECÍFICO - AOCS (To 1b-64)

Para a realização desta análise utilizaram-se pequenos recipientes de vidro (picnômetros) que possuem capacidade exata de 1 mL de volume no seu interior.

O picnômetro vazio foi pesado, completado com água deionizada e introduzido em um banho-maria a 25°C por 30 min.

Na seqüência, pesou-se o picnômetro com água. Ao mesmo picnômetro limpo e seco, foi adicionado o óleo e repetido o procedimento realizado com a água.

Procedeu-se ao cálculo da relação da massa de óleo ( $m_{\text{óleo}}$ ) pela massa de água ( $m_{\text{água}}$ ) nas mesmas condições, conforme *eq. 2.1*.

$$\text{Peso específico} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{água}}} \quad (2.1) \quad \text{sendo } m = \text{massa}$$

### 2.4.3 ÍNDICE DE PERÓXIDO - AOCS (Cd 8-53)

Para esta análise pesou-se em torno de 5 g de óleo em um frasco *Erlenmeyer* de 250 mL com tampa de vidro. Adicionou-se, exatamente, 30 mL de uma solução de

ácido acético-clorofórmio (3:2) e 0,5 mL de uma solução saturada de KI.

Após repouso de 1 min, adicionou-se 30 mL de água deionizada e 1 mL de solução indicadora de amido.

Titulou-se com solução de tiosulfato de sódio a  $0,1 \text{ eq L}^{-1}$  até a coloração azul desaparecer e calculou-se o índice de peróxido conforme *eq. 2.2*.

$$IP = \text{meq/kg óleo} = \frac{V N 1000}{m} \quad (2.2)$$

*V = volume de solução de tiosulfato de sódio gasto – volume gasto no branco*

*N = concentração de solução de tiosulfato de sódio corrigida*

*m = massa da amostra em gramas*

#### 2.4.4 ÍNDICE DE SAPONIFICÁVEIS - AOCS (Cd 3-25)

Para determinar este índice, pesou-se em torno de 2 a 5 g de amostra, adicionou-se 50 mL de KOH alcoólico 1%. O conteúdo do recipiente foi então saponificado em refluxo por 30 min. A titulação da base remanescente foi realizada com solução de HCl  $0,75 \text{ mol L}^{-1}$ , previamente padronizado. Realizou-se a titulação do branco e calculou-se o índice conforme *eq. 2.3*.

$$IS = \text{mg KOH g}^{-1} = \frac{(B - A) M 1,58}{m} \quad (2.3)$$

*A = volume de solução de ácido clorídrico gasto com a amostra.*

*B = volume de solução de ácido clorídrico gasto com o branco.*

*M = concentração de solução de ácido clorídrico padronizado ( $\text{mol L}^{-1}$ )*

*m = massa da amostra em gramas*

#### 2.4.5 ÍNDICE DE ACIDEZ - AOCS (Cd 3d-63)

Em um frasco Erlenmeyer foram pesados 5g da amostra e adicionado 64 mL de solução solvente [isopropanol – tolueno (1:1)].

A seguir, titulou-se com solução de hidróxido de sódio 0,1 mol L<sup>-1</sup>, em presença da fenolftaleína. Realizou-se a titulação do branco e calculou-se o índice conforme a eq. 2.4.

$$\text{índice de acidez} = \text{mg KOH g}^{-1} = \frac{(A - B) M 56,1}{m} \quad (2.4)$$

Onde

*A* = volume de solução de hidróxido de sódio gasto com a amostra

*B* = volume de solução de hidróxido de sódio gasto com o branco

*M* = concentração de solução de hidróxido de sódio padronizada (mol L<sup>-1</sup>)

*m* = massa da amostra em gramas

#### 2.4.6 ÍNDICE ESPECTROFOTOMÉTRICO DE COR – AOCS (Cc 13c-50)

Este método foi empregado em substituição ao método *Lovibond*<sup>m</sup> de determinação da cor. Neste método, foi lida a transmitância do óleo livre de partículas suspensas a 440 nm e a 500 nm. Empregou-se um espectrofotômetro na região do UV/visível modelo 918 da GBC. Conforme a eq. 2.5 quando as transmitâncias nos dois comprimentos de onda resultam em 100%, o índice fotométrico do óleo iguala-se ao da água.

---

<sup>m</sup> Este método emprega um sistema de leitura da cor de líquido em termos de unidades de amarelo a vermelho. O método fotométrico está sendo considerado mais preciso e elimina o erro do analista.

$$\text{Índice fotométrico de cor} = \frac{\%T_{440nm}}{\%T_{500nm}} \quad (2.5)$$

#### 2.4.7 ÍNDICE DE INSAPONIFICAÇÃO - AOCS (Ca 6a-40)

Cerca de 2 g da amostra foram saponificadas conforme *item 2.4.4*. Após separou-se a matéria insaponificável por extração líquido – líquido, usando-se um funil de separação. Como solvente utilizou-se 3 volumes de éter etílico. Depois lavou-se a fase etérea com três volumes de água deionizada.

O solvente foi evaporado e o resíduo sólido foi seco em estufa até peso constante. O percentual foi calculado em relação à massa inicial de óleo.

### 2.5 MÉTODOS INSTRUMENTAIS DE ANÁLISE

Os métodos instrumentais de análise empregados para caracterizar as amostras de óleo de rícino e de óleo de rícino modificado foram GC-FID, GC-MSD, <sup>1</sup>H NMR, <sup>13</sup>C NMR, HA/TR/FTIR.

#### 2.5.1 CROMATOGRAFIA GASOSA

A análise por GC-MSD foi realizada visando à separação e identificação dos ácidos graxos, dos componentes presentes na fase insaponificável do óleo de rícino, dos produtos da etanolise enzimática e dos componentes presentes no extrato obtido na extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão. Por GC-FID, foi quantificado o

produto da etanolise enzimática.

Foram utilizados um cromatógrafo Shimadzu QP 5050A com coluna capilar SPB 1 (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ), HP 5(60 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) e DBwax-20M (30 m x 0,25 mm x 0,25  $\mu\text{m}$ ) e um cromatógrafo Varian 3300 com uma coluna *megabore* DB5 (25 m x 0,53 mm x 1,5  $\mu\text{m}$ ).

### 2.5.1.1 ÁCIDOS GRAXOS – AOCS (Ce 1c-89)

A análise cromatográfica dos ácidos graxos provenientes dos triacilgliceróis das amostras de óleo extraídas e das amostras de óleo hidrogenadas foi realizada por GC-MSD, empregando o ácido derivatizado.

O método de derivatização usado foi de metilação com  $\text{BF}_3$ /metanol. Foram pesados 250 mg de amostra em um frasco Erlenmeyer de 50 mL e adicionado 6 mL de solução metanólica de NaOH.

A seguir acoplou-se um condensador de refluxo e deixou-se em refluxo por 5 a 10 min ou até os glóbulos de óleo desaparecerem. Então foram adicionados, através do condensador, 7 mL de solução de  $\text{BF}_3$ /metanol e deixou-se a ebulição por 2 min. Com o mesmo procedimento adicionou-se 5 mL de heptano, deixando em ebulição por mais 1 min. Removeu-se o aquecimento e o condensador após o sistema ter sido resfriado até a temperatura ambiente. Adicionou-se solução saturada de cloreto de sódio, com rotações suaves do recipiente, até a fase heptânica flutuar.

Transferiu-se a fase heptânica para um tubo de ensaio, no qual foi adicionado  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro. Após alguns minutos, o extrato foi transferido para um recipiente limpo e seco e armazenado até o momento da análise cromatográfica.

Para a análise, otimizou-se as condições da coluna HP5 e SPB1 que foram o



aquecimento inicial à 180°C e elevando-o a 1,3°C min<sup>-1</sup> até 205°C, quando passou-se a elevá-lo até 5°C min<sup>-1</sup> até 250°C; a temperatura do injetor em 280°C e da interface em 300°C; a injeção foi feita no modo *split* 1:50; o fluxo da fase móvel (He) foi 1mL min<sup>-1</sup> e o volume injetado 0,2 µL. Com a fase estacionária DBwax-20M, a temperatura da coluna também iniciou a 180 °C, aquecendo a 1,3 °C min<sup>-1</sup> até 220°C e as demais condições foram as mesmas.

Para a identificação dos ácidos graxos presentes em cada amostra, foi analisado cada componente em separado, por similaridade com os espectros da biblioteca Wiley 229 e com soluções padrões preparadas em concentrações de 25 mg mL<sup>-1</sup>.

Os cálculos da concentração foram realizados por normalização, sendo que os fatores de correção utilizados foram obtidos a partir de soluções padrões e estão descritos na Tabela XVIII.

**TABELA XVIII** - Fator de correção dos ésteres metílicos dos ácidos graxos.

Éster metílico do ácido	Fator de correção
C16:0	0,996
C18:0	1,000
C18:1	1,100
C18:2	1,120
C18:3	1,200
12-OH 9-C18:1	1,009
12-OH C18:0	1,004
12- C=O C18:0	1,070

Como não havia padrão de éster metílico do ácido cetosteárico, os cetosteáricos, produzidos na reação de hidrogenação com cicloexeno como doador de hidrogênio, foram separados por cromatografia em coluna de sílica gel, empregando como fase móvel, hexano seguido de diclorometano. As frações obtidas foram transesterificadas com BF<sub>3</sub>/metanol e injetadas por GC-MSD. A

fração que apresentou menor quantidade dos outros ácidos, foi seca sob N<sub>2</sub>(g), e redissolvida em concentração conhecida em diclorometano.

Para os produtos hidrogenados, com os valores obtidos de concentração dos ácidos graxos presentes nos glicerídeos das amostras, realizou-se o cálculo de conversão (eq. 2.6) e seletividade (eq. 2.7) de cada produto formado a partir do ácido ricinoléico<sup>276</sup>.

$$\text{Conversão} = \% = \frac{\sum \text{concentração dos produtos}}{\text{concentração de ácido ricinoleico do óleo inicial}} \cdot 100 \quad (2.6)$$

$$\text{Seletividade} = \% = \frac{\text{concentração do produto}}{\text{concentração total de ácido ricinoleico convertido}} \cdot 100 \quad (2.7)$$

### 2.5.1.2 INSAPONIFICÁVEIS

Com o fim de analisar a fase insaponificável das amostras de óleo extraídas, solubilizou-se a matéria insaponificável, obtida segundo o *item* 2.4.7, com éter etílico e adicionou-se 1 a 2 gotas de BSA (éter *bis*-trimetil-sililacetamida). O BSA tem a finalidade de derivatizar o grupamento OH através da ligação do grupo trimetil silil ao oxigênio da hidroxila.

A amostra derivatizada foi analisada em coluna HP 5 e as condições cromatográficas otimizadas foram: temperatura inicial da coluna de 150°C, continuando a aquecer 5°C/min até 300°C e permanecendo nesta temperatura por 25 min; temperatura do injetor de 280°C; temperatura da interface de 300°C; injeção no modo split 1:27; fluxo da fase móvel (He) 1mL/min e volume injetado de 1,0 µL.

### 2.5.1.3 ÉSTERES ETÍLICOS

Os ésteres etílicos produzidos na etanólise enzimática foram identificados por GC-MSD e quantificados por GC-FID.

As condições cromatográficas otimizadas para a análise por GC-MSD foram: análise isotérmica a 250°C; temperatura do injetor 260°C; temperatura da interface 270°C; injeção no modo split 1:50; fluxo da Fase móvel (He) 1 mL min<sup>-1</sup>; volume injetado de 0,2 µL e Detector de massas no modo *SIM*, com os íons 74 e 86, selecionados.

Em GC-FID, a quantificação foi realizada na temperatura de 250°C para a coluna, e 250 e 260°C, para o injetor e detector, respectivamente, o fluxo da fase móvel (N<sub>2</sub>(g)) foi de 5 mL min<sup>-1</sup>, do H<sub>2</sub>(g) de 30 mL min<sup>-1</sup> e do Ar sintético de 300 mL min<sup>-1</sup>.

Para a quantificação dos ésteres etílicos a partir da análise cromatográfica, foi utilizado o método de calibração por padrão externo. As soluções padrões de ricinoleato de etila foram preparadas com 25 mg mL<sup>-1</sup>.

### 2.5.1.4 CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC

A análise por HPLC foi realizada com amostras de óleo extraído por prensagem e com o produto da etanólise enzimática. Por este método comparou-se a concentração de triricinoleína presente em frações de óleo obtidas por prensagem a pressões diferentes e avaliou-se qualitativamente o produto de etanólise do óleo de rícino, empregando comparação com solução padrão de ricinoleato de etila preparada a 25 mg mL<sup>-1</sup>, utilizando como solvente acetonitrila-acetona (1:1).

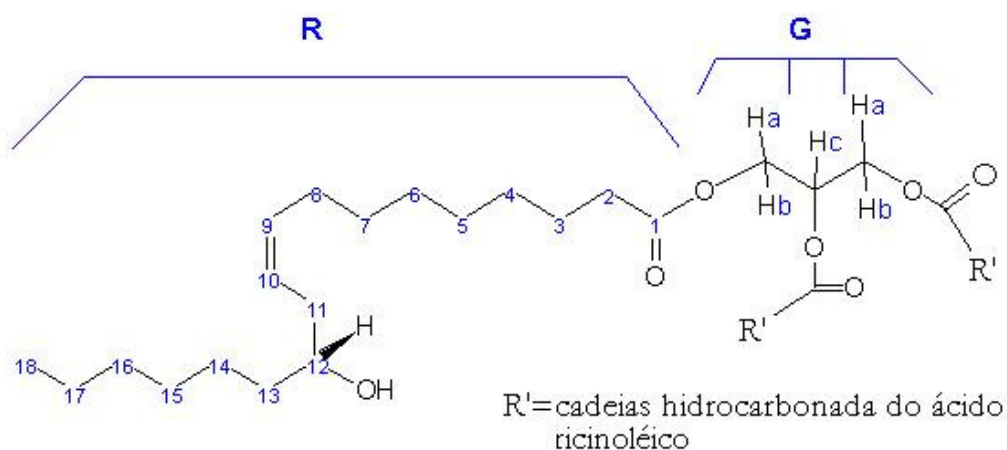
As amostras também foram solubilizadas na fase móvel [acetoneitrila-acetona (1:1)] e injetadas em volumes de 10 µL.

O equipamento *LDC-Analytica* com detector de índice de refração foi utilizado em temperatura ambiente, empregando uma coluna *Supersil-C18* (14 cm, 4 mm, 5  $\mu\text{m}$ ), com um volume injetado de 10  $\mu\text{L}$  e fluxo da fase móvel acetonitrila e acetona (1:1) de 0,3 a 0,5  $\text{mL min}^{-1}$ .

## 2.5.2 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$

A análise por ressonância magnética nuclear (NMR) foi realizada em um equipamentos *Varian* de 200MHz e de 300MHz, com a amostra solubilizada em  $\text{CDCl}_3$ , empregando trimetilsilano (TMS) como referência. A interpretação dos espectros foi realizada com base na molécula de triricinoleína, principal glicerídeo do óleo de rícino (Figura 35)<sup>101,257-258</sup> e segundo a simulação dos espectros<sup>n</sup>.

Nas amostras provenientes da extração por  $\text{CO}_2$  a alta pressão, foi analisada a presença de outros componentes, além da triricinoleína.



**Figura 35:** Representação da molécula da triricinoleína conforme interpretação dos espectros de  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR.

<sup>n</sup> Software de simulação de RMN – ACD/NMR 1.0 (1994-1996) da Advanced Chemistry Development Inc.

A partir da identificação das ressonâncias presentes nos espectros e do valor de suas integrais, foram calculados: o peso molar - PM (eq. 2.8), a área referente a um próton (eq. 2.9), número de insaturações/mol (eq. 2.10), número de OH/mol (eq. 2.11), índice de iodo (eq. 2.12), grau de hidrogenação (eq. 2.13), percentual de OH remanescente (eq. 2.14) e índice de hidroxila (eq. 2.15) segundo a Figura 35.

$$PM = \left[ 15,034 \frac{R18}{3} + 14,026 \left( \frac{\sum_{i=4}^8 Ri + \sum_{i=13}^{17} Ri + R3 + R2 + R11}{2} \right) + 17 \frac{OH}{1} + 13 \frac{R12}{1} + 173,1 \left( \frac{Gb + Ga}{4} \right) + 26,016 \left( \frac{R9 + R10 - Gc}{2} \right) + 26,016 \left( \frac{Ln + L}{2} \right) \right] \div \frac{Gb + Ga}{4} \quad (2.8)$$

$$\text{Área por próton} = Gc = \frac{Ga + Gb}{4} \quad (2.9)$$

$$n^0 \text{ insaturações / mol} = D = \frac{R9 + R10 - Gc}{2 Gc} \quad (2.10)$$

$$n^0 \text{ de hidroxilas / mol} = OH = \frac{R12}{Gc} \quad (2.11)$$

$$\text{Índice Iodo (gI}_2\text{ / 100g)} = \frac{253,8 D}{PM} 100 \quad (2.12)$$

$$\text{Conversão (\%)} = 100 - \frac{D_{final}}{D_{inicial}} 100 \quad (2.13)$$

$$\text{Hidroxilas remanescente (\%)} = \frac{OH_{final}}{OH_{inicial}} 100 \quad (2.14)$$

$$\text{Índice de hidróxido (mgKOH / 1g)} = \frac{OH \ 56,0}{PM} 1000 \quad (2.15)$$

### 2.5.3 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO - IR

Para a realização desta análise, usou-se um espectrofotômetro no infravermelho com Transformada de Fourier – FTIR, Nicolet Magna 550,

equipado com um acessório de refletância total atenuada horizontal. Sobre a superfície do cristal de ZnSe que está contido no acessório, foram adicionadas duas gotas do óleo. A interpretação dos grupamentos químicos existentes no óleo foi analisada no espectro obtido na região espectral entre 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , obtido com 32 scans de varredura<sup>244, 245</sup>.

As amostras mais pastosas, obtidas na extração por  $\text{CO}_2$  a alta pressão, foram primeiramente solubilizadas em diclorometano, a seguir, duas gotas foram adicionadas ao cristal do acessório, deixadas evaporar e analisadas nas condições descritas acima.

## **2.6 HIDROGENAÇÃO**

Os experimentos de hidrogenação foram a CTH utilizando limoneno e cicloexeno como solventes doadores de hidrogênio e com  $\text{H}_2(\text{g})$ . Em ambas condições foi utilizado o Pd/C como sistema catalítico.

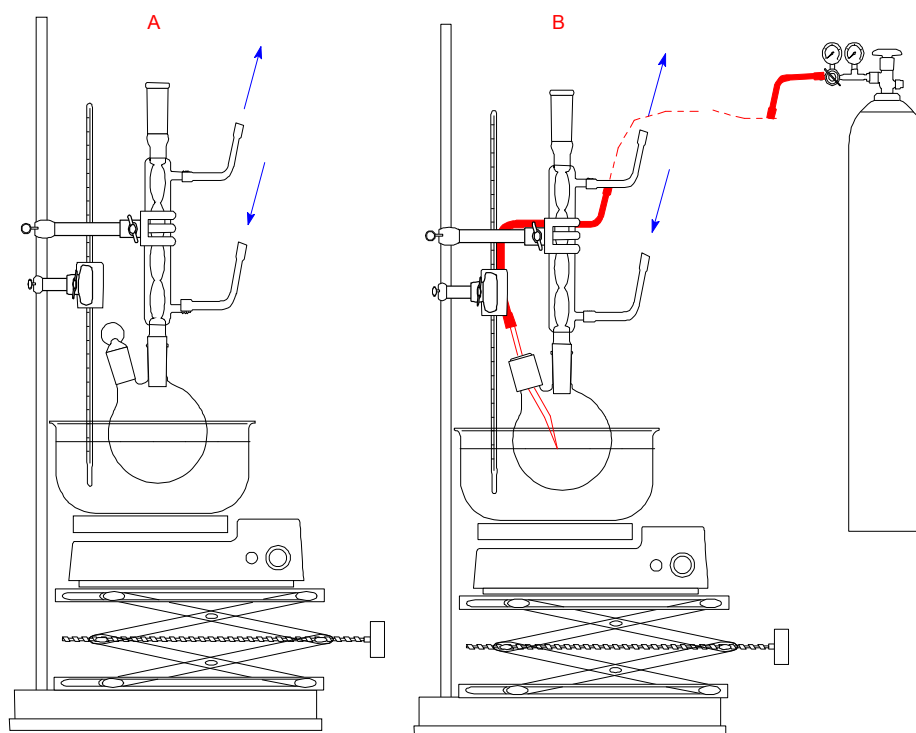
### **2.6.1 PROCEDIMENTO DA CTH COM LIMONENO COMO SOLVENTE DOADOR DE HIDROGÊNIO**

Em um balão de fundo redondo de 50 mL, foram adicionados 1 g (1,07 mmol) de óleo de rícino, 436 mg (3,21 mmol) de limoneno e 23 mg de Pd/C 10%, correspondendo a 2% molar de Pd com relação ao óleo.

As proporções de óleo e limoneno foram de 1:3, e em relação ao número de ligações duplas presentes no óleo foi de 1:1.

Ao balão contendo os reagentes, foi acoplado um condensador de refluxo e a

mistura foi aquecida em banho de óleo a 178<sup>0</sup>C, sob constante agitação (Figura 36A). Esta temperatura é importante para fazer o sistema entrar em ebulição.



**Figura 36:** Esquema da hidrogenação: A – CTH e B- Hidrogenação com H<sub>2</sub>.

As reações foram realizadas por 1 hora a partir do momento em que a temperatura chegou a 178<sup>0</sup>C.

Tendo estabelecido estas condições básicas foram avaliadas respectivamente as influências da variação:

- da concentração de Pd/C, de 0,1 a 4%;
- do tempo de reação de 30 min a 3 horas;
- da ordem de adição dos reagentes no reator (balão de 50 mL);
- e da temperatura de 130 a 178<sup>0</sup>C.

## 2.6.2 PROCEDIMENTO DA CTH COM CICLOEXENO COMO SOLVENTE DOADOR DE HIDROGÊNIO

Em um balão de fundo redondo de 50 mL foi adicionado 1 g (1,07mmol) de óleo de rícino, 263 mg (3,21 mmol) de cicloexeno e 23mg de Pd/C, correspondendo a 2% molar de Pd com relação ao óleo.

Logo, as proporções de óleo e cicloexeno foram de 1:3, e em relação ao número de ligações duplas presentes no óleo foi de 1:1, da mesma forma como foi realizado com o limoneno.

Ao balão contendo os reagentes foi acoplado um condensador de refluxo e a mistura foi aquecida em banho de óleo a 80°C, sob ebulição.

As reações foram realizadas sob constante agitação, por períodos de 1 hora, contados a partir do momento em que a temperatura do banho de óleo chegou a 80°C (Figura 36A).

Com base neste procedimento, foi realizada a variação da concentração de Pd/C de 1 a 4% e da temperatura de 25 a 80°C.

### 2.6.2.1 SEPARAÇÃO DOS PRODUTOS DA CTH

Imediatamente após a reação, adicionaram-se 5 mL de hexano ao meio reacional. O extrato foi transferido para um tubo de centrífuga e centrifugado por aproximadamente 3 min. O sobrenadante foi transferido para outro tubo e o Pd separado foi encaminhado para lavagem com solventes<sup>o</sup>.

---

<sup>o</sup> O Pd/C foi lavado com vários volumes de diclorometano e secado a 250°C.



A seguir, o extrato foi resfriado a 4°C por alguns minutos e novamente centrifugado, visando à separação dos produtos de reação.

Com o resfriamento houve a formação de duas fases, uma contendo os produtos de reação e óleo que não reagiu e a outra contendo os produtos de desproporcionamento do solvente doador de hidrogênio em hexano. Estas fases foram melhor separadas por centrifugação.

A fase hexânica, foi conduzida à análise por SPME-GC-MSD ou armazenada a -15°C para posteriormente ser analisada.

Os produtos de reação foram secos em estufa sob vácuo com temperatura entre 50 e 70°C, para a retirada de produtos de desproporcionamento do limoneno e solvente que pudessem estar misturados.

Os produtos assim obtidos foram caracterizados por <sup>1</sup>H NMR, GC-MSD e HATR/FTIR.

### 2.6.3 PROCEDIMENTO DA HIDROGENAÇÃO COM H<sub>2</sub>(g)

A Hidrogenação com H<sub>2</sub>(g) foi realizada com o objetivo de comparar os resultados com a CTH. Assim, os experimentos foram realizados em um sistema semelhante ao da CTH como mostra a Figura 36B.

As reações foram realizadas em um balão de fundo redondo de 50 mL onde foram adicionados 1 g (1,07 mmol) de óleo de rícino, 5 mL de hexano como solvente e 23 mg de Pd/C 10%, correspondendo a 2% molar de Pd com relação ao óleo. As reações também foram realizadas com 1% de Pd/C.

O fluxo de H<sub>2</sub>(g) foi controlado em 40 mL min<sup>-1</sup> e a temperatura foi de 25°C. Para evitar o arraste do solvente, foi acoplado ao condensador um banho

termostatizado à temperatura de 5 a 10 °C.

As reações foram conduzidas até 3 horas, sob constante agitação.

### 2.6.3.1 SEPARAÇÃO DOS PRODUTOS DA HIDROGENAÇÃO COM H<sub>2</sub>(g)

Após a reação, foi adicionado diclorometano ao meio reacional. O produto foi solubilizado e transferido para um tubo de centrífuga.

A mistura foi centrifugada e o Pd/C foi separado e conduzido à lavagem com solvente, da mesma forma que foi realizado na CTH.

Os solventes foram evaporados em capela sob atmosfera de Argônio. O produto assim obtido foi caracterizado por <sup>1</sup>H NMR, GC-MSD e HA'IR/FTIR.

Os experimentos foram efetuados em um sistema equivalente ao empregado para a CTH, conforme Figura 36b.

## 2.7 ETANÓLISE ENZIMÁTICA

As reações de etanólise enzimática do óleo de rícino da marca Delaware, foram realizados em n-hexano, tendo como substrato óleo e etanol. As enzimas empregadas como biocatalisadoras das reações de transesterificação foram a *Lipozyme IM* e a *Novozym 435*, ativadas por alguns minutos a 50°C.

As condições experimentais empregadas nos diferentes estudos realizados foram selecionadas a partir da seleção de variáveis determinantes da velocidade de

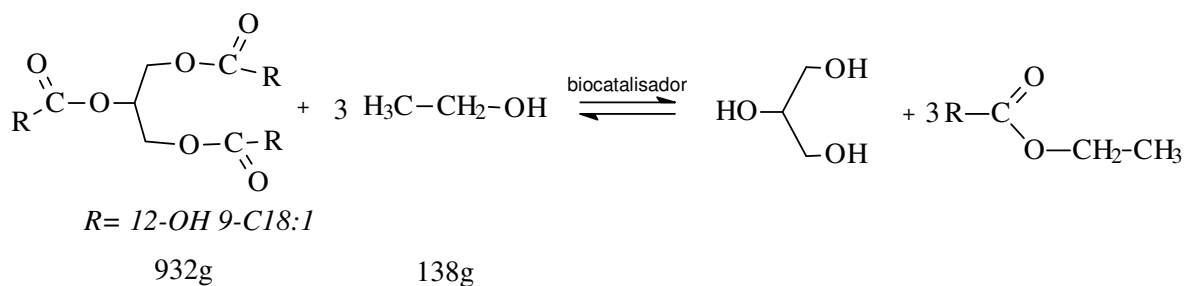
reação e conforme planejamento experimental sugerido por Taguchi<sup>P</sup>, de dois níveis e 4 variáveis (água, enzima, razão de substratos e temperatura) apresentados na Tabela XIX.

**TABELA XIX** - Condições experimentais empregadas na alcoólise enzimática do óleo de rícino.

ESTUDO	TEMP. (°C)	CONC. DE ENZIMA (%)	CONC. DE ÁGUA ADICIONADA	RAZÃO MOLAR ÓLEO-ETANOL
E1	-/35	-/5	-/0	-/1:3
E2	-/35	-/5	+/10	+/1:10
E3	-/35	+/20	-/0	+/1:10
E4	-/35	+/20	+/10	-/1:3
E5	+/65	-/5	-/0	+/1:10
E6	+/65	-/5	+/10	-/1:3
E7	+/65	+/20	-/0	-/1:3
E8	+/65	+/20	+/10	+/1:10
E9	0/50	0/12,5	0/5	0/1:6,5

*Os valores foram pré-definidos por Oliveira e Oliveira em 2001<sup>54</sup>*

A razão molar óleo-etanol foi calculada a partir das massas molares dos mesmos, segundo a equação química da Figura 37.

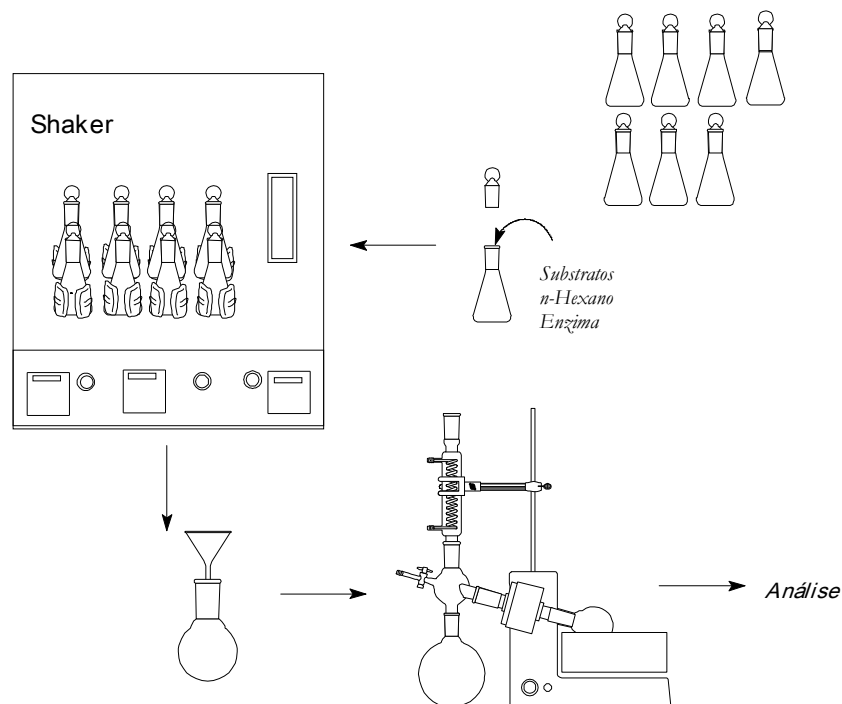


**Figura 37:** Relação estequiométrica dos substratos utilizados na etanolise.

<sup>P</sup> De acordo com a metodologia de Taguchi, dois planejamentos são empregados para projetar os parâmetros: um arranjo, em que as linhas representam cada ensaio realizado nas condições definidas pelos níveis (1, 2 e 3) definidos para essas variáveis. Esse arranjo irá acomodar quatro variáveis com três níveis cada em nove ensaios.

A quantidade de enzima e de água adicionadas ao meio reacional foi definida com relação a soma das massas dos substratos álcool e óleo.

As reações foram realizadas em frascos Erlenmeyer de 125 mL, em períodos de 1 a 8 horas em um *shaker* Marconi – MA 420, a 200rpm (Figura 38).



**Figura 38:** Esquema da etanolise enzimática

Aos frascos Erlenmeyer preparados com 1 g (1,07 mmol) de óleo, 148 a 493 mg (3,22 a 10,70 mmol) de etanol, 0 a 149,3 mg (8,3 mmol) de água e 57 a 300 mg de enzima, conforme descrito na Tabela XIX, foram adicionados 40 mL de n-hexano como solvente, depois fechados e imediatamente introduzidos no *shaker* pré-aquecido.

De cada estudo realizaram-se 8 reações, sendo representativas de tempos de 1 a 8 horas, feitas paralelamente, ou seja, no início do período de 8 horas colocavam-se no *shaker* 8 frascos Erlenmeyers iguais, sendo que a cada hora retirava-se um frasco.

Logo após, cada extrato foi filtrado para separação da enzima, e o solvente evaporado em evaporador rotatório e secado em estufa a 50 – 70°C.

Para avaliar a repetibilidade da etanólise, realizou-se o estudo E9 em triplicata para as duas enzimas.

Os produtos da etanólise enzimática foram caracterizados por GC-MSD, RMN de <sup>1</sup>H e <sup>13</sup>C, HATR-FTIR e HPLC. Os ésteres produzidos foram separados apenas para a análise por GC-MSD e por GC-FID.

Assim, do produto obtido da reação, era retirada uma alíquota para a análise cromatográfica.

Logo, em cerca de 200 mg do produto de reação foram adicionados de 5 a 10 mL de solução saturada de cloreto de sódio e 7 mL de heptano, seguido de suaves rotações do recipiente, até a fase heptânica flutuar. A fase heptânica foi transferida para um tubo de ensaio onde foi adicionado Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro. Após alguns minutos, o extrato foi transferido para um balão volumétrico de 2 mL limpo e seco, sendo armazenado a 4°C até o momento da análise cromatográfica.

Para o cálculo do rendimento da reação, considerou-se somente a etanólise da triricinoleína (89% no óleo), conforme equações 2.16 e 2.17.

$$c_{ester} (mg mL^{-1}) = \frac{c_{Padrão} A_{Amostra}}{A_{Padrão}} \quad (2.16)$$

$$Conversão(\%) = \frac{8,52 c_{éster}}{c_i} 100 \quad (2.17)$$

onde

$c_{Padrão}$  = concentração da solução padrão de ricinoleato de etila ( $mg mL^{-1}$ )

$A_{amostra}$  = área obtida com a injeção da amostra

$A_{Padrão}$  = área obtida com a injeção da solução padrão de ricinoleato de etila

$c_{éster}$  = concentração de ricinoleato de etila calculado por GC – MSD ( $mg mL^{-1}$ )

$c_i$  = massa pesada de produto de reação (mg)

## 2.8 TRATAMENTO QUIMIOMÉTRICO

O tratamento dos dados foi realizado empregando-se os *softwares* Unscrambler 6.11 da CAMO ASA e Pirouette 2.7 da Infometrix.

Os dados foram tratados, empregando Análise Exploratória, por meio da análise por componentes principais (PCA) e por regressão por mínimos quadrados parciais (PLS).

A correlação dos dados foi realizada para dados de análise cromatográfica, espectroscopia na região do infravermelho e empregando alguns parâmetros físico-químicos como peso específico e índice de refração, para as matrizes de dados de extração, de hidrogenação e de etanólise enzimática.

## 2.9 MINIMIZAÇÃO DE RESÍDUOS

Os procedimentos para descarte e armazenagem de resíduos de laboratório seguiram as normas existentes na UFRGS e na UNISC, tendo-se o cuidado de reduzir, sempre que possível, as quantidades de solventes e reagentes utilizados nos procedimentos de análise quantitativa clássica.

Desta forma, alguns procedimentos gerais foram adotados como:

- substituíram-se métodos titrimétricos por instrumentais;
- otimizaram-se as condições reacionais com quantidades reduzidas de material de partida;
- catalisadores e biocatalisadores foram lavados com solvente logo após os experimentos e guardados visando à reutilização futura;

- armazenaram-se os resíduos específicos para que possam ser estudados os procedimentos de descarte ou reaproveitamento;

- purificaram-se os solventes de extração para serem utilizados em atividades de ensino e pesquisa.

## **3 RESULTADOS E DISCUSSÃO**





### **3.1 EXTRAÇÃO**

Os resultados de extração do óleo de rícino presente nas sementes de *Ricinus communis* L. estão divididos em extração por prensagem, extração contínua por solvente em extrator Soxhlet e extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão.

### **3.2 EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM E POR SOLVENTE**

Os resultados da extração foram definidos com relação às sementes obtidas nas safras de 1999 a 2002.

#### **3.2.1 RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO**

Primeiramente, realizou-se um estudo de comparação de solventes para a extração do óleo de rícino empregando hexano, isopropanol e etanol, os quais extraíram  $20,4 \pm 0,2$ ;  $19,8 \pm 0,4$  e  $21,9 \pm 1,2\%$  de óleo, respectivamente.

Como não houve diferença significativa entre os solventes testados, e como com o etanol o índice fotométrico de cor foi menor do que o do óleo comercial, as extrações foram realizadas com hexano - o solvente usado industrialmente.

Com o etanol cabe um estudo mais aprofundado no futuro, pois trata-se de um solvente de fonte renovável e de toxicidade baixa.

O óleo também foi extraído diretamente da semente triturada. Neste caso realizou-se uma comparação entre a extração por solvente da torta obtida na prensagem com a semente da mesma amostra extraída diretamente por solvente, conforme Tabela XX.

**TABELA XX** - Rendimento da extração por prensagem seguida de extração por solvente comparada à extração por solvente diretamente das sementes.

AMOSTRA	RENDIMENTO EM ÓLEO NA EXTRAÇÃO (%)		
	Por prensagem da semente e por solvente da torta	Por solvente da semente	Diferença
1	39,5	34,5	5,0
2	43,9	37,7	6,2
3	39,7	34,0	5,7
4	39,2	34,1	5,1
5	48,9	44,0	4,9
6	38,6	32,6	6,0
7	41,9	36,8	5,1
8	47,7	42,2	5,5
<b>Média da diferença</b>			<b>5,4 ± 0,5</b>

Na extração por prensagem e por solvente, obteve-se um rendimento maior de óleo, com uma diferença de  $5,4 \pm 0,5\%$ . Isto possivelmente ocorreu em razão do teor elevado de óleo contido na semente, sendo necessário um tempo maior de extração para a massa de 10 g utilizada no extrator. Além disso, na extração por prensagem, mesmo após a centrifugação, havia uma massa adicional de gomas e material particulado que também foi extraído.

O rendimento em óleo total foi obtido pelo somatório das frações de óleo obtidas por prensagem e por solvente. Obteve-se em média  $41,1 \pm 3,5$  g de óleo

por 100 g de semente como mostra a Tabela XXI.

O valor obtido encontra-se em concordância com os valores publicados e descritos na Tabela I do *item 1.1*, no entanto, com a melhoria do manejo do plantio e seleção de variedades, acredita-se ser possível aumentar este percentual.

**TABELA XXI -** Rendimento em óleo dos cultivares analisados.

PERÍODO	CULTIVAR	PROPRIEDADE	EXTRAÇÃO (%)		
			por prensagem	por solvente	total
1998/1999	T1	1	27,0	12,5	39,5
		2	28,9	15,0	43,9
	B9	3	29,7	10,0	39,7
		2	22,3	16,3	38,6
		3	24,1	15,1	39,2
		4	30,5	18,4	48,9
D26	1	26,6	15,3	41,9	
1999/2000	G1	5	22,4	17,0	39,4
	T1	5	12,2	12,6	45,4
		6	30,9	11,2	43,0
	S80	5	22,8	15,5	38,3
	C1	7	30,0	16,6	46,6
	IAC 226	5	24,4	14,6	39,0
2000/2001	T1	8	29,4	10,8	40,2
	C1	8	29,8	15,3	45,1
	S80	8	23,2	15,0	38,2
	G1	8	30,0	13,9	43,9
2001/2002	T1	9	28,0	10,4	38,4
	G1	9	26,5	11,0	37,5
	C1	9	28,0	9,5	35,5
Média			26,3±4,4	13,8±2,6	41,1 ± 3,5

O percentual de 10 a 20% em óleo, foi obtido em extração por solvente, correspondendo ao óleo que permanece na torta após prensagem. Este percentual foi superior ao valor que permanece na torta nas indústrias de refino de óleo de rícino. A diferença se deve ao emprego de um sistema de prensa otimizado que, em muitos casos, utiliza prensas do tipo *expeller*, como já foi apresentado no *item 1.2*, ou

ao fato da torta oleosa ser triturada com solvente, aquecida e novamente prensada. Nesse procedimento, o óleo da primeira prensagem pode ser utilizado para fins medicinais e o da segunda, para fins industriais<sup>9</sup>.

Pode-se observar que no último conjunto de extração (período 2001/2002) por prensagem, o teor de óleo remanescente na torta foi reduzido a aproximadamente 10%. Isto foi possível em função de modificações no processo de prensagem, como, por exemplo, a redução da massa de semente adicionada no extrator, de 200 g para 120 g.

As amostras de sementes provenientes de épocas de plantio apresentaram teores de óleo conforme Tabela XXII.

**TABELA XXII** - Rendimento em óleo das sementes dos cultivares T1 e C1, provenientes do estudo de épocas de plantio.

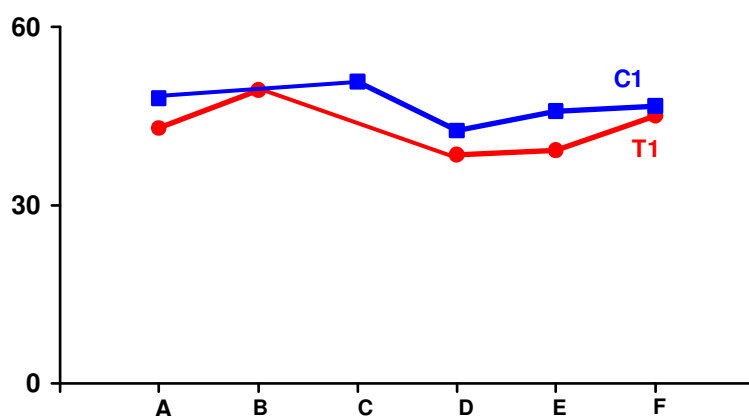
VARIÉDADE	PERÍODO	RENDIMENTO (%)		
		Prensagem	Solvente	Total
T1 Propriedade 6	A	28,7	14,3	43,0
	B	32,9	16,5	49,3
	D	28,5	10,0	38,5
	E	29,0	10,2	39,2
	F	32,9	12,1	45,0
	<b>Média</b>		<b>30,4±2,3</b>	<b>12,6±2,8</b>
C1 Propriedade 7	A	36,3	11,7	48,00
	B	36,9	-	-
	C	37,3	13,5	50,8
	D	29,4	13,1	42,5
	E	33,2	12,6	45,8
	F	35,2	11,4	46,6
<b>Média</b>		<b>34,7±3,0</b>	<b>12,4±0,9</b>	<b>46,7 ± 3,0</b>

*Com o cultivar T1, as plantas do período C não germinaram.*

<sup>9</sup> Informações da indústria Aboissa Óleos Vegetais - <http://www.aboissa.com.br/mamona/index.htm>

O estudo utilizou plantas cultivadas com intervalos de uma semana entre os plantios. Desta forma, foram geradas as amostras de A a F de cada cultivar, correspondendo a 1, 2, 3, 4, 5 e 6 semanas.

Como o rendimento em óleo variou sem demonstrar uma relação direta com a época, supõe-se que outros fatores, além dos sazonais, também foram determinantes para esta variabilidade, como mostra a Figura 39.



**Figura 39:** Rendimento em óleo com relação à época de plantio.

### 3.2.2 ANÁLISE QUÍMICA QUANTITATIVA CLÁSSICA

Os óleos obtidos foram analisados segundo os métodos recomendados pela AOCS. Primeiramente, foram obtidos os pesos específicos e o índice de refração de cada amostra, já que, de um modo geral, a determinação da natureza de um óleo pode ser feita a partir destes parâmetros. Estes índices são específicos de cada tipo de óleo e são relativos, principalmente, à proporção de ácidos graxos que o constituem.

Analisando os valores encontrados para os índices físicos dos óleos extraídos, tanto por prensagem quanto por solvente, pode-se observar que todos

apresentaram resultados satisfatórios, enquadrando-se no valor esperado para o índice de refração e peso específico do óleo de rícino.

Observou-se que o óleo extraído por solvente apresentou uma maior variação nos demais indicadores. Acredita-se que o aquecimento realizado durante a extração tenha contribuído para a oxidação do óleo, conforme pode ser observado mais marcadamente pelo índice de peróxido e de acidez (Tabela XXIII).

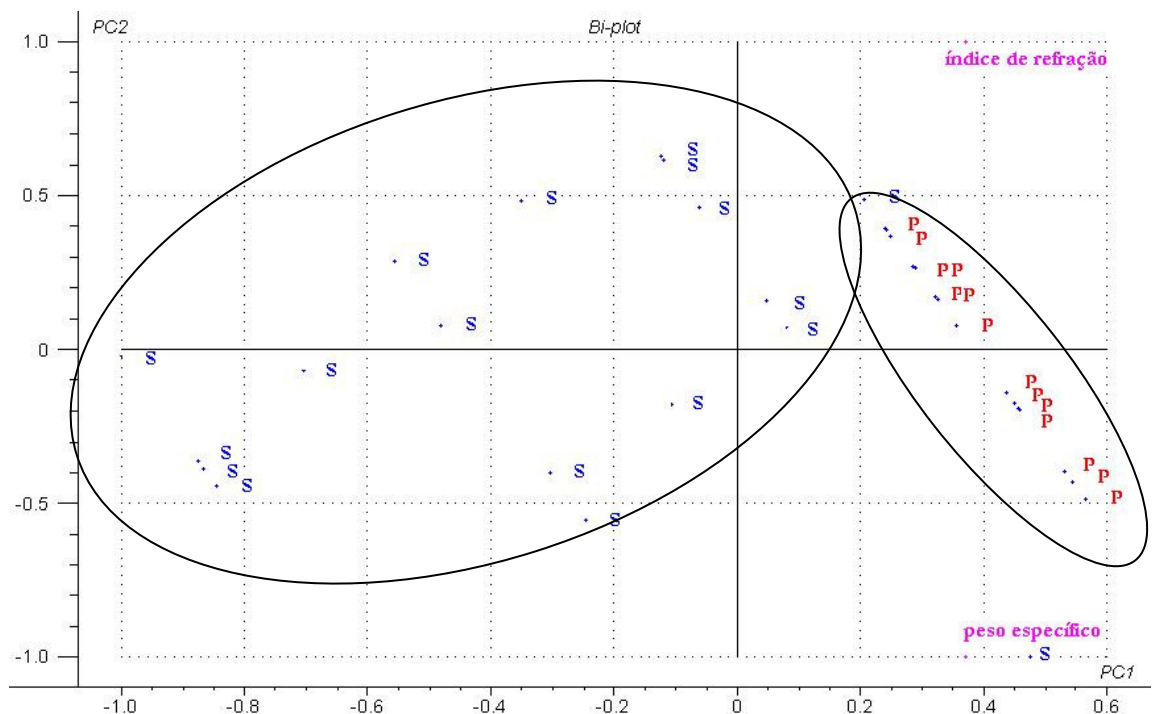
**TABELA XXIII** - Índices físico-químicos do óleo extraído das amostras provenientes dos estudos agrônômicos.

ÍNDICES	ÓLEO COMERCIAL	ÓLEO EXTRAÍDO	
		prensagem	solvente
Índice de acidez (mg KOH g <sup>-1</sup> )	1,2	0,6 ± 0,2	2,2 ± 0,1
Índice de saponificação (mgKOH g <sup>-1</sup> )	185,3	173,7 ± 1,0	169,7 ± 3,2
Índice de refração	1,479	1,479 ± 0,000	1,476 ± 0,001
Peso específico (g mL <sup>-1</sup> )	0,9610	0,9477 ± 0,00682	0,9537 ± 0,0063
Índice de insaponificação (%)	0,73	0,59 ± 0,16	0,86 ± 0,19
Índice de peróxido (meq kg <sup>-1</sup> )	-	0,0	42 ± 7
Índice fotométrico de cor	0,70	0,71	0,69
Índice de iodo* (gI <sub>2</sub> 10 <sup>-2</sup> g <sup>-1</sup> )	88,0 ± 3,4	87,7 ± 4,8	86,2 ± 3,1
Índice de hidróxido* (mgKOH g <sup>-1</sup> )	163 ± 2	167 ± 5	164 ± 6

\*Calculados a partir dos espectros de <sup>1</sup>H NMR

Ao aplicar a análise por componentes principais à matriz de dados do peso específico e índice de refração, de 34 amostras, referente aos óleos extraídos por prensagem e por solvente, obteve-se o gráfico bivariado da Figura 40.

Neste tratamento, a componente principal 1 (PC1) foi o peso específico e a componente Principal 2 (PC2) foi o índice de refração. Considerando que o índice de refração variou para as amostras extraídas por solvente, assim como, ocorreu maior variação para o peso específico dos óleos extraídos por prensagem, foi possível discriminar duas classes de óleos. Constatou-se que a discriminação das classes deve-se a 83% da variância explicada pela PC1. No gráfico, observa-se este resultado por meio dos dados da extração por solvente que se encontram com menores valores da PC1 e os dados da extração por prensagem, com maiores valores de PC1.



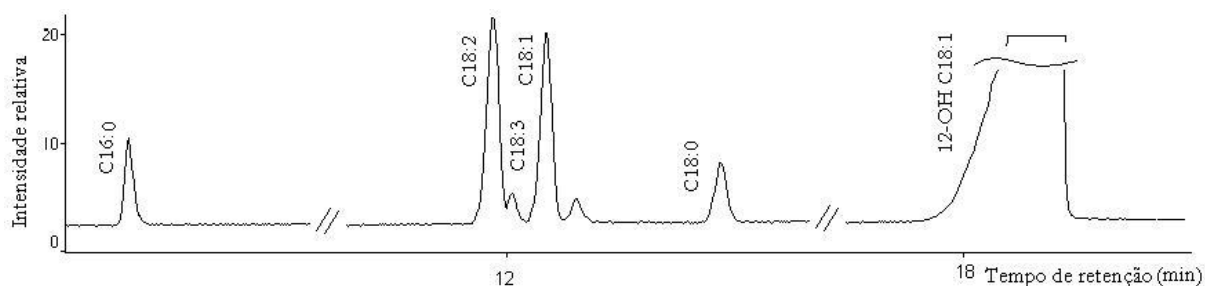
**Figura 40:** Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos resultados obtidos para peso específico (PC1) e índice de refração (PC2) das amostras de óleo obtidas da safra 00/01 extraídas por solvente(S) e por prensagem (P).

Esta análise possibilita identificar facilmente o tipo da extração empregada para a obtenção do óleo de rícino.

### 3.2.3 ANÁLISE DOS ÁCIDOS GRAXOS

A partir dos resultados da análise dos ácidos graxos realizada segundo a metodologia descrita no *item 2.5.1.1* e mostrada de forma genérica na Figura 41, pode-se observar que as amostras de óleo apresentaram o perfil esperado para o óleo de rícino. Identificou-se a presença dos ésteres metílicos dos ácidos graxos: palmítico (C16:0), linoléico (C18:2), linolênico (C18:3), oléico (C18:1) esteárico (C18:0) e ricinoléico (12-OH 9-C18:1), nas proporções apresentadas na Tabela XXIV.

Também foram identificados outros ésteres metílicos dos ácidos palmitoléico (C16:1), heptadecanóico (C17:0), eicosenóico (C20:1) e araquídico (C20:0) que correspondem a quantidades inferiores a 0,2% dos ácidos graxos totais, os quais puderam ser separados na análise cromatográfica. Os ácidos, nestas concentrações, não foram apresentados na Tabela XXIV.



**Figura 41:** Cromatograma do íon total (TIC) de uma amostra de óleo de rícino obtido da extração por solvente.

Empregando uma matriz de dados que corresponde à concentração de ácidos graxos presentes em 21 amostras, realizou-se a análise exploratória de alguns resultados com base nas amostras comerciais e extraídas por solvente e por prensagem (Figura 42).

A análise exploratória dos dados dos teores de ácidos graxos, por meio do gráfico bivariado de escores PC1 x PC2 que acumularam respectivamente 62 e 11%



da variância explicada, possibilitou a discriminação das três categorias de óleos analisadas.

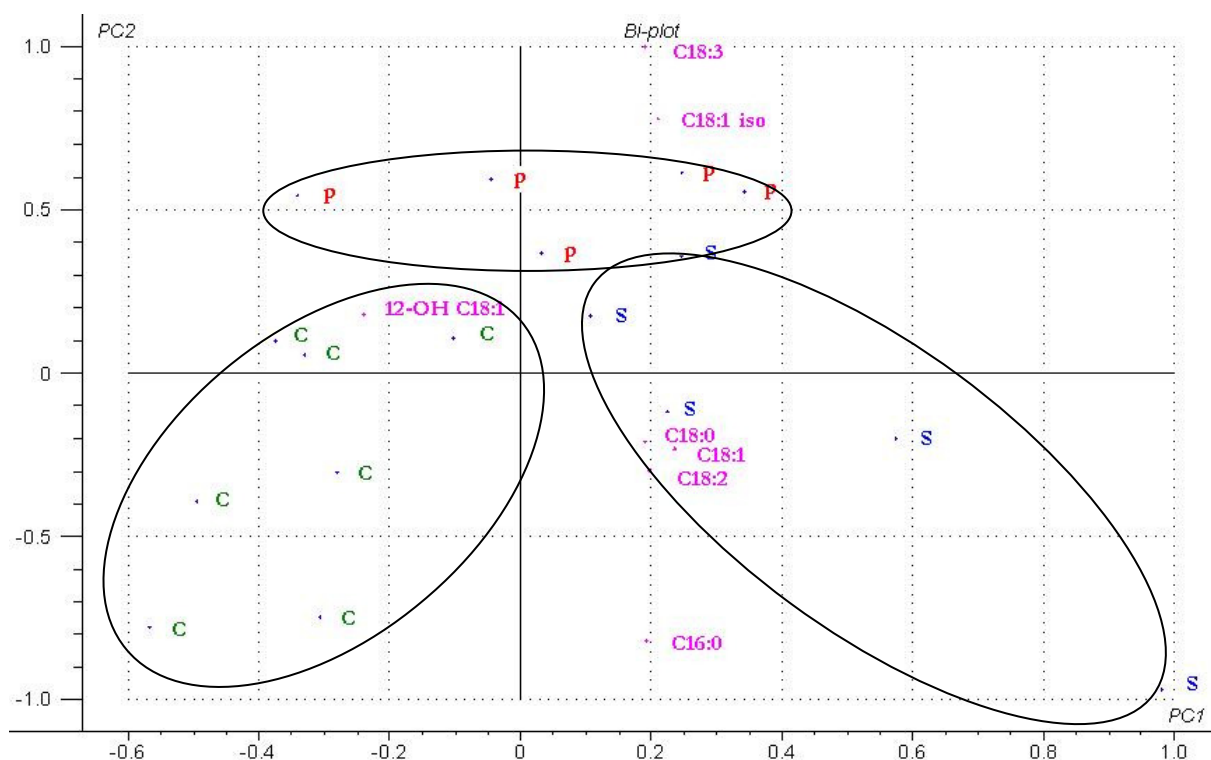
**TABELA XXIV** - Proporção média de ácidos graxos encontrados nas amostras de óleo de rícino analisadas.

ÁCIDOS	ÓLEOS (%)		
	comercial	extraídos por solvente	extraídos por prensagem
C16:0	1,4 ±0,2	1,3±0,2	2,3±1,4
C18:2	4,9±0,2	5,3±0,3	6,8±1,9
C18:3	0,3±0,1	0,4±0,1	0,5± 0,2
C18:1	3,5±0,2	4,0±0,4	5,4±2,1
C18:1 ( <i>isômero</i> )	0,3±0,1	0,6±0,1	0,7±0,2
C18:0	0,9±0,2	1,3±0,3	1,7±1,1
12-OH 9-C18:1	88,2±1,4	86,9±1,4	84,5±1,8

As amostras extraídas por prensagem estavam distribuídas na parte superior do gráfico, entre os quadrantes 1 e 2, da mesma forma que as variáveis C18:1 *isômero* e C18:3. Em uma mesma região do gráfico, entre os quadrantes 1 e 3, observam-se as amostras de óleo comercial e a variável 12-OH 9-C18:1. O terceiro grupo, com os óleos extraídos por solvente, foi discriminado entre os quadrantes 2 e 4, mais no quadrante 4, do mesmo que as variáveis C18:1, C18:0, C16:0 e C18:2.

Assim, foi possível constatar que as amostras de óleos comerciais mostram-se mais ricas em ácido ricinoléico do que os óleos extraídos por solvente e por prensagem, o que levou à suposição de que o óleo comercial apresenta alguma diminuição dos seus componentes poliinsaturados. Já as amostras extraídas por prensagem eram mais ricas em ácido linolênico e no isômero do ácido oléico.

Com este resultado foi possível discriminar bem as amostras extraídas por prensagem, as amostras extraídas por solvente e as amostras de óleo comercial (Figura 42), como havia sido feito com o peso específico e índice de refração.



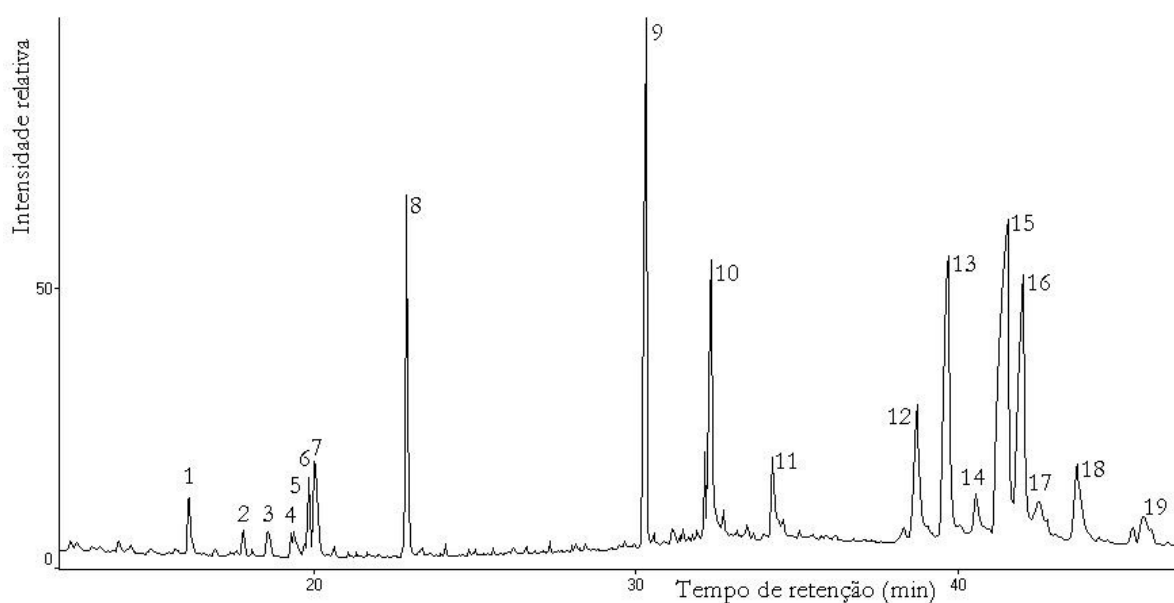
**Figura 42:** Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos resultados obtidos para a composição de ácidos graxos presentes nas amostras de óleo extraídos por prensagem (p), por solvente (s) e comercial (c).

Desta forma, constatou-se que há uma diferença entre os óleos extraídos por prensagem e por solvente, relacionada, principalmente, aos acilgliceróis insaturados. Por outro lado, pela análise exploratória do teor de ácidos graxos, não foi possível discriminar os óleos extraídos de cultivares diferentes.

### 3.2.4 ANÁLISE DOS COMPONENTES MINORITÁRIOS

Lechner e colaboradores<sup>77</sup> já haviam descrito os principais componentes da fase insaponificável do óleo de rícino, no entanto, não haviam avaliado as diferentes variedades de semente de mamona, nem a influência do método de extração.

De um modo geral, conforme cromatograma da Figura 43, foi possível identificar no óleo de rícino a presença de tocoferóis, ésteres etílicos, álcoois, esteróis e hidrocarbonetos. Alguns, no entanto, não puderam ser identificados com o auxílio da pesquisa de similaridade dos espectros de massas da amostra com os espectros da Biblioteca Wiley 226.



**Figura 43:** Cromatograma do íon total (TIC) dos componentes insaponificáveis extraídos de um óleo que foi obtido por prensagem do cultivar T1.

Diferenças foram observadas com relação à natureza e quantidade dos componentes separados, havendo algumas substâncias presentes em todas as amostras (Tabela XXV). Entre estas se destaca a presença constante de esqualeno, ricinoleato de etila e esteróis. Os tocoferóis e ésteres etílicos dos ácidos graxos que se encontram no óleo não estavam presentes em todas as amostras.

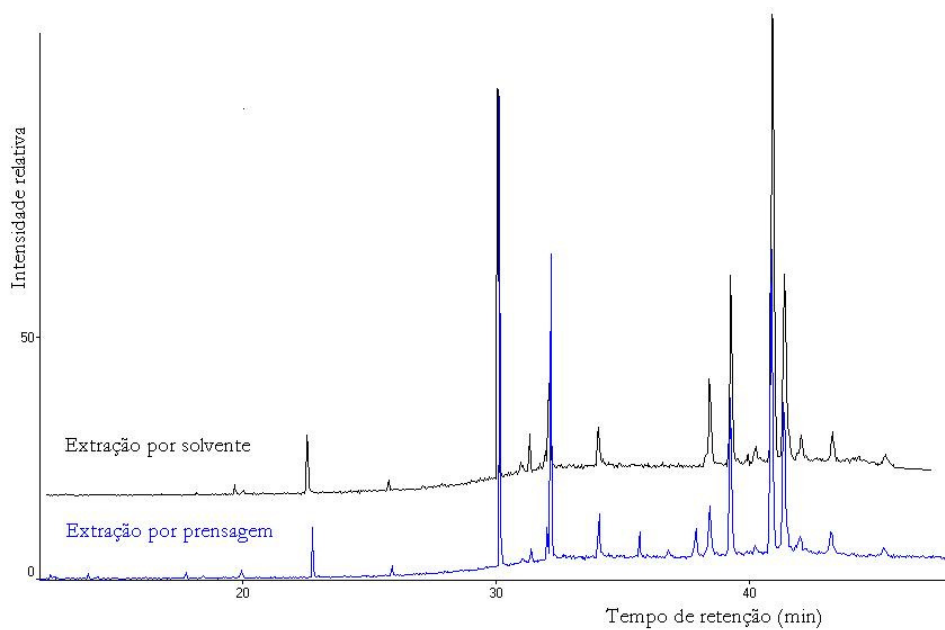
Analisando a Figura 44, verificou-se as diferenças dos cromatogramas. Existem substâncias presentes nos óleos obtidos da extração por prensagem que não estão nos óleos obtidos da extração por solvente da torta. Supostamente, em função da temperatura de extração, ocorre a degradação de alguns componentes que permanecem na torta.

**TABELA XXV** - Componentes minoritários identificados no óleo de rícino obtido de amostras extraídas por prensagem e por solvente.

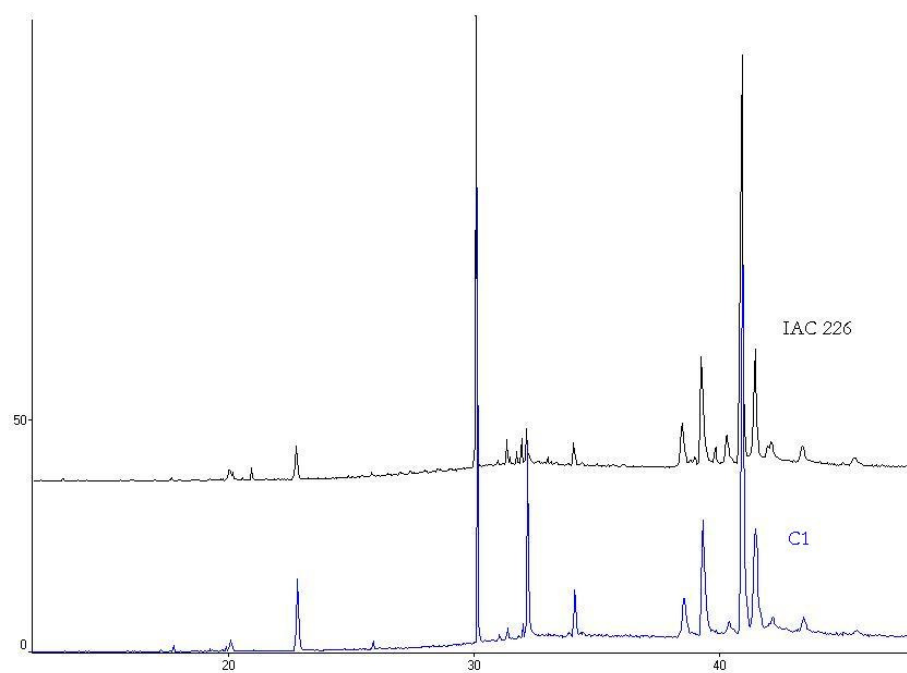
Identificação	Nomenclatura	Fórmula molecular	Peso molecular
1	palmitato de etila	$C_{18}H_{36}O_2$	284
3	fitol	$C_{20}H_{40}O$	296
4	linoleato de etila	$C_{20}H_{36}O_2$	308
5	oleato de etila	$C_{20}H_{38}O_2$	310
6	estearato de etila	$C_{20}H_{40}O_2$	312
7	farnesol	$C_{15}H_{26}O$	222
8	ricinoleato de etila	$C_{20}H_{38}O_3$	326
9	esqualeno	$C_{30}H_{50}$	410
10	$\Delta$ -tocoferol	$C_{27}H_{46}O_2$	402
11	$\gamma$ -tocoferol	$C_{28}H_{48}O_2$	416
12	$\Delta^5$ -ergostenol	$C_{28}H_{48}O$	400
13	stigmasterol	$C_{29}H_{48}O$	412
14	obtusifoliol	$C_{30}H_{50}O$	426
15	$\gamma$ -sitosterol	$C_{29}H_{50}O$	414
16	fucosterol	$C_{29}H_{48}O$	412
18	cicloartenol	$C_{30}H_{50}O$	426

*Nos componentes assinalados como 2, 17 e 19 identificaram-se apenas as funções químicas, sendo respectivamente, um álcool e dois esteróis.*

Com as amostras dos cultivares T1, C1, IAC 226, G1 e S80 também foi possível constatar que a composição e concentração dos insaponificáveis podem mudar. Observou-se na Figura 45 a comparação da fração insaponificável dos cultivares C1 e IAC 226.



**Figura 44:** Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem e por solvente do cultivar T1.



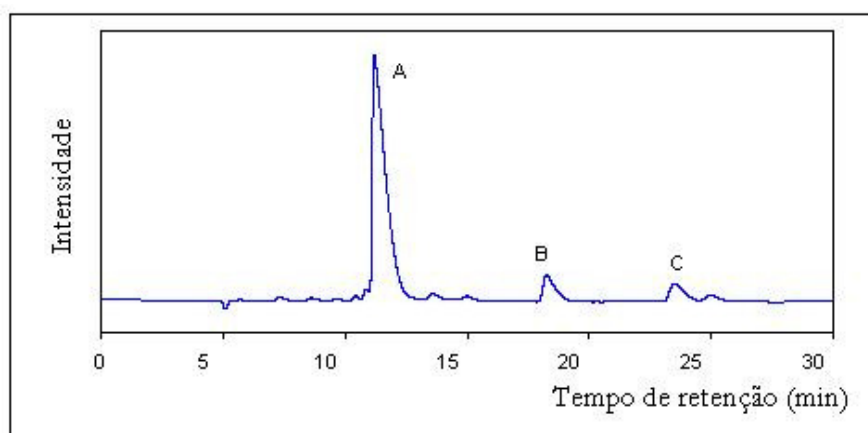
**Figura 45:** Cromatograma do íon total (TIC) da fração insaponificável dos óleos extraídos por prensagem dos cultivares C1 e IAC 226.

### 3.2.5 ANÁLISE POR CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA EFICIÊNCIA - HPLC

Com esta análise, foi possível separar os glicerídeos e ácidos graxos livres presentes no óleo (Figura 46).

Foi possível constatar que existem três glicerídeos predominantes (A, B e C), sendo que, pela disposição dos picos nos cromatogramas e interpretação com relação às informações já obtidas por GC-MSD, supôs-se que o pico mais intenso (A) seja a triricinoleína, que corresponde a aproximadamente 90% do óleo.

Segundo Trãn *et al*<sup>5</sup>, B e C e outros picos menos intensos são glicerídeos constituídos de ácido ricinoléico e de ácidos minoritários (C18:0, C16:0, C18:1, C18:2, C18:3).



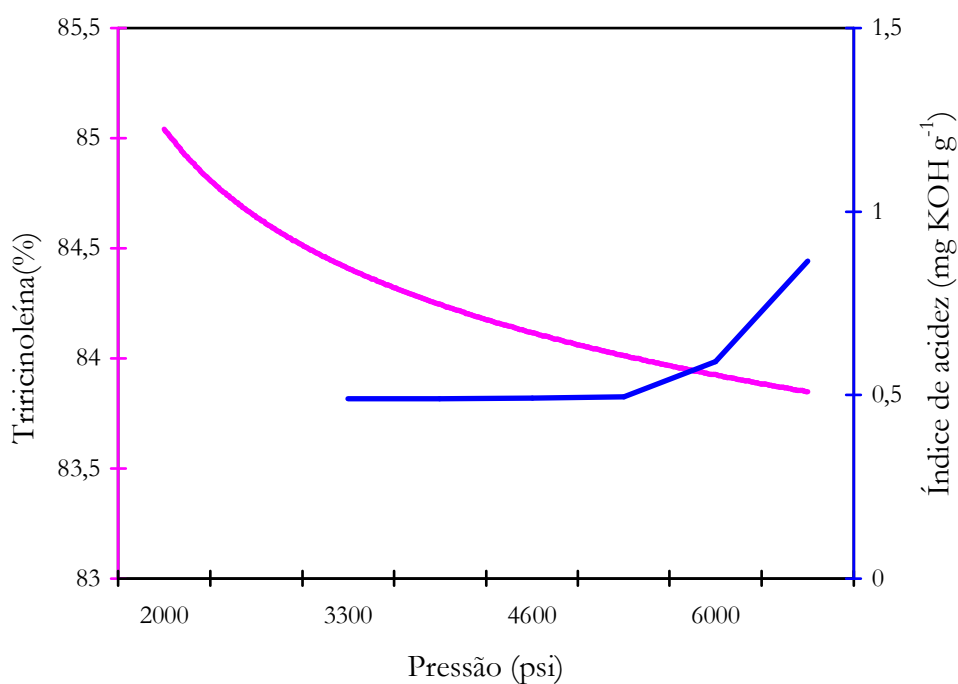
**Figura 46:** Cromatograma de HPLC da amostra de óleo do cultivar G1 extraído por prensagem.

Como por HPLC não se analisou a concentração dos componentes separados, desconhece-se, por este método cromatográfico, a variabilidade do óleo obtido de sementes de experimentos agrícolas diferentes ou mesmo de métodos de extração diferentes.

Por outro lado, a análise por HPLC acompanhada por determinação do

índice de acidez permitiu otimizar o método de extração por prensagem, em nível de laboratório.

Assim, considerando que o pico A da Figura 46 era a triricinoleína, observou-se, pela comparação de áreas dos picos obtidos nas mesmas condições, que no processo de extração por prensagem, na medida em que se aumentava a pressão de extração, diminuía a concentração da triricinoleína. Como para as mesmas amostras houve um aumento do índice de acidez, propõe-se que na extração por prensagem, com pressões de extração mais elevadas, possa iniciar a alteração do óleo por hidrólise (Figura 47).



**Figura 47:** Gráfico da concentração relativa de triricinoleína e do Índice de acidez com relação à pressão de extração.

### 3.2.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$

Em diferentes amostras de óleo de rícino, representadas na Figura 48, identificaram-se: seis hidrogênios vinílicos (R9-R10), que apresentam como sinal um multiplete na região entre 5,25 a 5,63 ppm; três hidrogênios metínicos (R12), que apresentam um multiplete na região entre 3,55 a 3,69 ppm; e nove hidrogênios metílicos (R18) que apresentaram um tripleto na região de 0,89 ppm.

Quanto aos deslocamentos químicos dos hidrogênios metilênicos (Ga e Gb), pode-se observar um conjunto de duplo dubleto centrados em 4,14 e em 4,30 ppm.

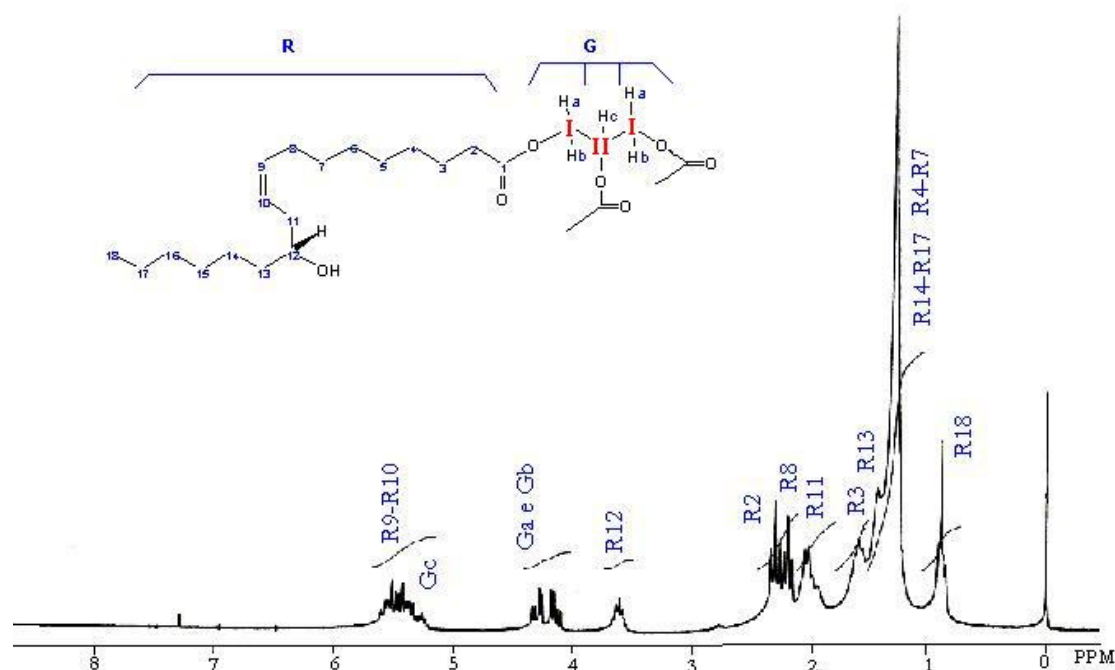
O conjunto dos hidrogênios metilênicos da cadeia hidrocarbonada dos ácidos graxos presentes no óleo foram encontrados na região entre 2,4 e 1 ppm. Nesta região, ainda é possível especificar detalhadamente a natureza destas ressonâncias. Conforme Figura 48, as ressonâncias entre:

- 1,95 e 2,40 ppm referem-se aos hidrogênios R2, R8 e R11;
- a região de 1,22 e 1,68 ppm referem-se aos hidrogênios R3 e R13;
- 1,4 e 1,0 ppm, encontram-se os hidrogênios R4 a R7 juntamente com R14 a R17.

As análises por  $^1\text{H}$  NMR foram realizadas com amostras de óleo extraídas por prensagem, por solvente e do óleo comercial. Em todos os espectros obtidos foram identificados os mesmos sinais. Também foi calculado o PM em  $968 \pm 50$  g/mol, próximo ao valor da triricinoleína que é 932 g/mol.

A Figura 49, mostra o espectro de  $^{13}\text{C}$  NMR do óleo de rícino. Neste espectro foi possível identificar os diferentes tipos de carbonos existentes na molécula.





**Figura 48:** Espectro de  $^1\text{H}$  NMR de amostra de óleo extraída por prensagem.

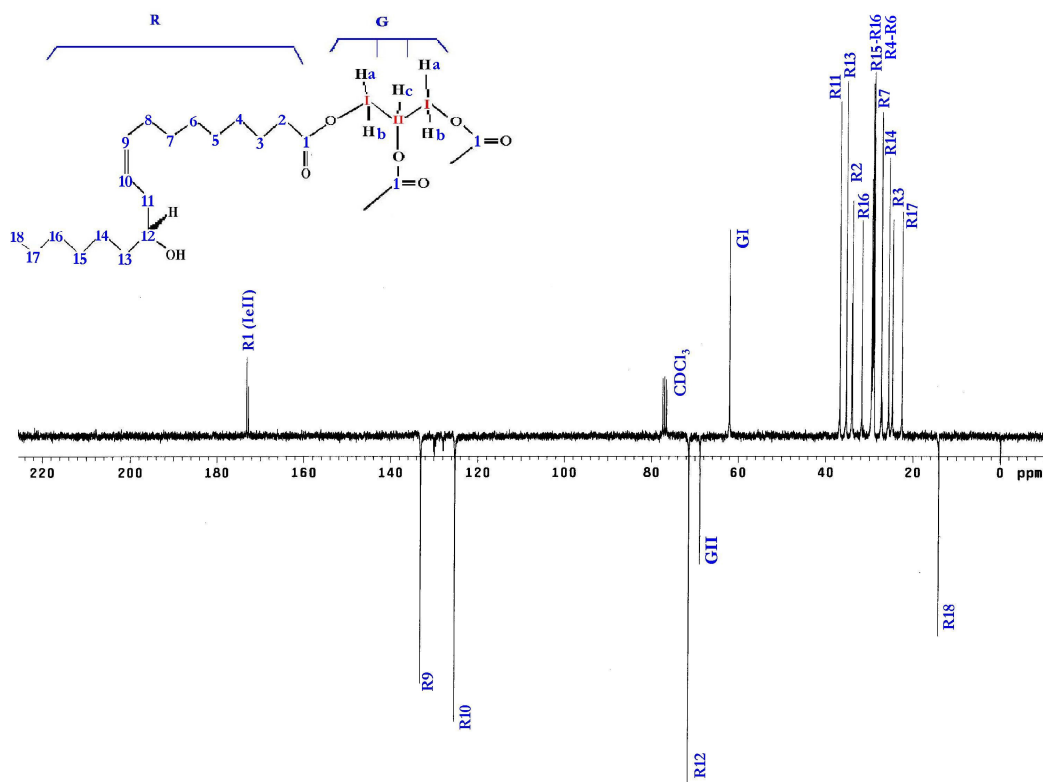
Assim as carbonilas do triglicerídeo foram observadas nas ressonâncias encontradas na região de 172 ppm. Os grupos metilênicos, correspondentes ao carbono R2, vizinho à carbonila, podem ser identificados através de simulação pela ressonância em 35 ppm.

Os carbonos vinílicos foram encontrados em 132 e 125 ppm. Foi interessante observar duas ressonâncias de baixa intensidade entre estes sinais que seriam carbonos vinílicos pertencentes aos ácidos C18:2 e C18:3, que são componentes minoritários.

O carbono terciário R12 foi encontrado a 72 ppm, enquanto que o carbono GII é identificado pela ressonância próxima a 70 ppm. O carbono referente ao grupo metílico foi facilmente identificado pela ressonância em 14 ppm.

Entre os carbonos secundários, em 60 ppm observaram-se os dois carbonos

GI da posição externa do glicerídeo e em 20 a 40 ppm os carbonos metilênicos da cadeia do ácido ricinoléico. Destacam-se os carbonos R11 e R13, apresentados em regiões mais baixas do espectro, por serem vizinhos à insaturação e à hidroxila da triricinoleína.



**Figura 49:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  NMR -APT da amostra de óleo do cultivar G1 extraído por prensagem.

### 3.2.7 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO

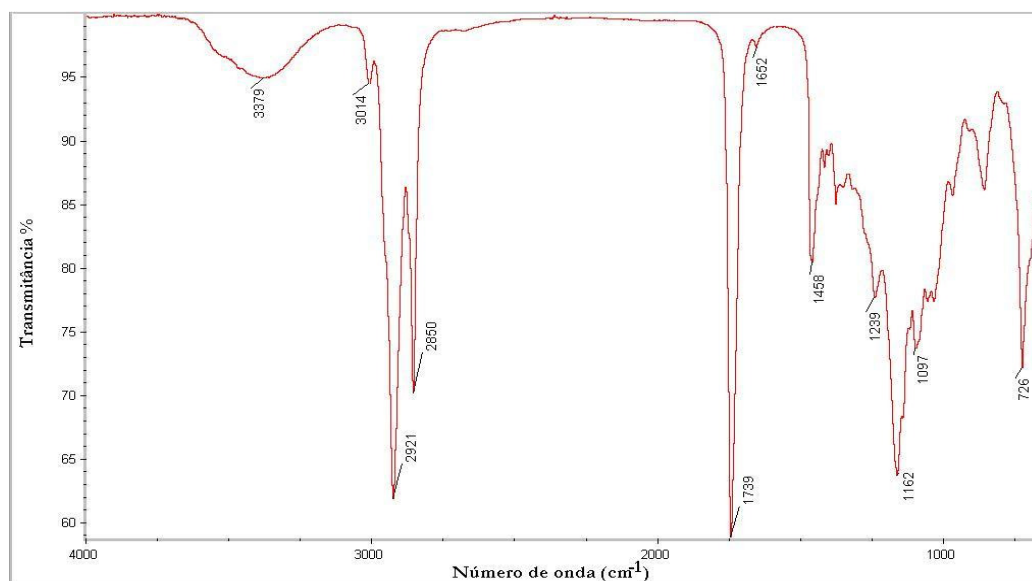
A caracterização do óleo também resultou da avaliação de espectros no infravermelho das diferentes amostras, observando-se a existência de grupamentos funcionais característicos do óleo de rícino, como mostra na Tabela XXIV e no espectro no infravermelho da Figura 50<sup>277</sup>. Estas bandas foram observadas em todas as amostras analisadas e, em parte, condizem com as bandas observadas por

Mossoba *et al*<sup>245</sup> para ésteres de ácidos graxos de cadeia longa.

**TABELA XXVI** - Especificação das bandas de espectros no infravermelho identificadas no óleo de rícino.

Atribuição	Sinal (cm <sup>-1</sup> )
v-OH	~3379m
v=C-H	3014f
v assim CH <sub>2</sub>	2921F
v sim CH <sub>2</sub>	2850F
νC=O	1739F
νC=C	1652f
δCH <sub>2</sub>	1458m
νC-OH	1260-970m
v C-O assim (ester)	1162m
v C-O sim (ester)	1097m
δCH <sub>2</sub>	726m

*f- fraca; F- forte; m- média*



**Figura 50:** Espectro no infravermelho de amostra de óleo extraída por prensagem.

Em razão do óleo de rícino apresentar majoritariamente a triricinoléina, por intermédio dos espectros de infravermelho foi possível atribuir: que as bandas correspondentes à presença de insaturação estão em 1652 e 3014 cm<sup>-1</sup>; a presença

de OH em uma banda larga em aproximadamente  $3379\text{cm}^{-1}$ ; e C=O e C-O-C=O nas bandas em  $1739\text{ cm}^{-1}$ ,  $1162$  e  $1097\text{cm}^{-1}$ , respectivamente.

### **3.2.8 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM E EXTRAÇÃO POR SOLVENTE**

Com base nos resultados obtidos, constatou-se que:

- os óleos extraídos por prensagem e por solvente apresentam propriedades físico-químicas similares as do óleo comercial;
- realizando uma análise exploratória dos resultados, constatou-se que foi possível discriminar as amostras de óleo com relação ao método de extração;
- metodologias como  $^1\text{H}$  e  $^{13}\text{C}$  NMR, GC-MSD e FTIR, possibilitaram a caracterização das amostras de óleo em nível molecular;
- por  $^1\text{H}$  NMR também foi possível calcular os índices de iodo e de hidróxido dos óleos;
- na determinação do rendimento em óleo das amostras coletadas no Vale do Rio Pardo – RS, não foram observadas diferenças atribuíveis ao cultivar ou ao período em que foi realizado o plantio.

### **3.3 EXTRAÇÃO POR $\text{CO}_2$ A ALTA PRESSÃO**

Os experimentos com  $\text{CO}_2$  a alta pressão foram realizados na maioria com o solvente no estado supercrítico. Os únicos experimentos que não estavam no

estado supercrítico foram os 1 e 2, nos quais a temperatura era de 20°C.

Os resultados destes experimentos indicaram que o óleo de rícino não foi o produto mais importante usando esta forma de extração. O rendimento obtido para o óleo foi muito baixo, mas outros compostos importantes puderam ser extraídos e identificados.

### 3.3.1 RENDIMENTO DE EXTRAÇÃO

A torta empregada no planejamento experimental foi importante para avaliar o rendimento obtido na extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão.

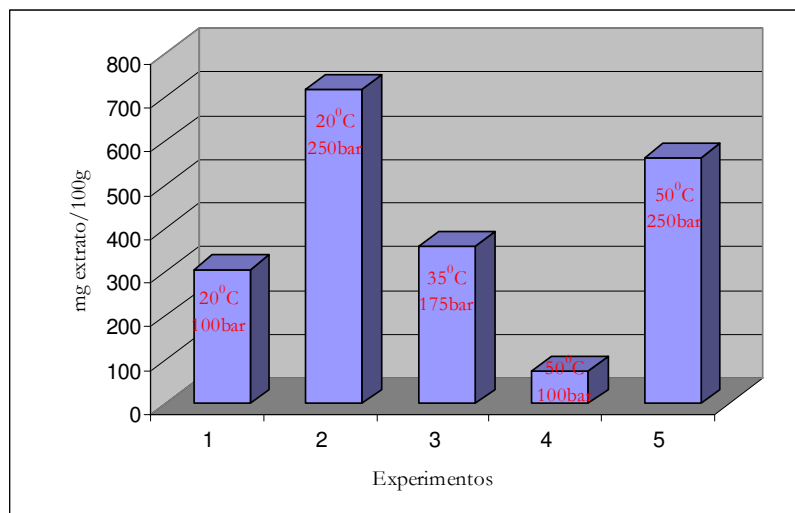
Nas condições de temperatura (20 e 50°C) e pressão (250 e 100bar) avaliadas, com o mesmo volume de CO<sub>2</sub> empregado na extração, verifica-se um menor rendimento nas condições a 250bar e 20°C (Tabela XXVII, Figura 51).

Principalmente nesta condição, o extrato apresentou uma característica totalmente diferenciada do produto obtido por outros métodos de extração como prensagem e extração contínua com hexano. Os extratos apresentaram-se mais pastosos e de coloração amarela mais intensa.

**TABELA XXVII** - Rendimento de extração dos estudos 1 a 5 da extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão.

ESTUDO	MASSA DE CO <sub>2</sub> (g)/30min	MASSA TOTAL DE CO <sub>2</sub> (g)	RENDIMENTO mg extrato/100g torta
1	50,9	152,6	306,7
2	60,1	180,2	716,6
3	51,2	153,5	361,0
4	11,9	35,9	73,2
5	51,1	153,2	561,7

No estudo 4, onde houve um menor rendimento é também a condição com menor densidade de CO<sub>2</sub> como mostra o ANEXO E; logo a massa de CO<sub>2</sub> envolvida na extração também foi menor.



**Figura 51:** Rendimento de extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão com relação às condições de extração.

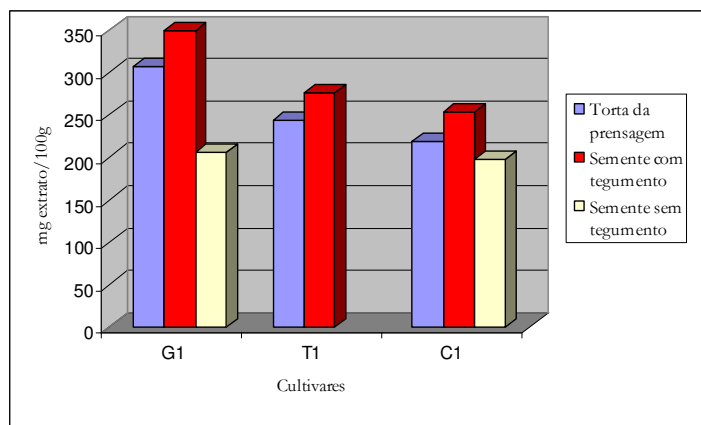
A torta, após a extração nos estudos de 1 a 5, foi analisada com o intuito de determinar a quantidade de óleo que ainda havia nas mesmas e os índices de refração e de acidez. Observou-se que na extração por solvente com a torta que tinha sido submetida à extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão, o teor de óleo encontrado foi de  $22,3 \pm 0,7\%$  e os índices de acidez e de refração deste óleo, foram próximos aos dos valores encontrados para o óleo extraído por solvente, sem ter passado pela extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão. Novamente comprovando que o óleo tinha sido extraído em pouquíssima quantidade.

Nos experimentos com a torta e a semente dos cultivares G1, C1 e T1, (Figura 52) foram empregadas as condições de 175 bar e 35°C. Nestas condições, o CO<sub>2</sub> se encontra no estado supercrítico.

Nesta Figura 52, ainda foram inseridos os resultados obtidos com a baga da semente, para comparação, alcançando-se assim um menor rendimento. No

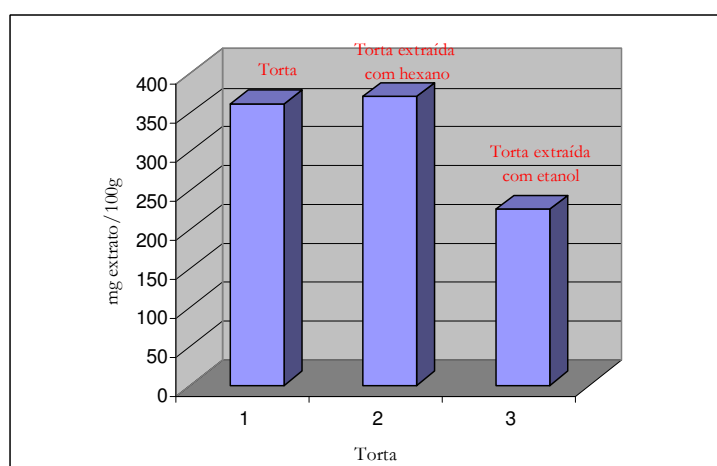
entanto, a coloração foi tão clara quanto à do óleo de rícino.

Aliás, em outras condições experimentais, como a do estudo 2, o extrato apresentou-se amarelado e pastoso, sugerindo que parte dos compostos presentes no extrato fossem provenientes do tegumento.



**Figura 52:** Rendimento de extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão da semente e da torta a 175 bar e 35<sup>o</sup>C.

Todavia, quando a torta sofre uma prévia extração por solvente, o óleo remanescente é muito pouco e o extrato obtido na extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão fica enriquecido com os outros componentes (Figura 53).



**Figura 53:** Rendimento da extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão realizada com as tortas antes e após a extração por solvente, a 175 bar e 35<sup>o</sup>C.

Nos experimentos 14 e 15 apresentados na Tabela XVII do *item 2.3.4.*, quando o etanol foi o solvente usado para extrair previamente o óleo da torta, houve uma queda no rendimento da extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão. Nesta situação, a torta estava praticamente isenta de óleo.

Por outro lado, a torta previamente extraída por hexano não apresentou modificações no rendimento, se comparada à extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão sem prévia extração por solvente. Esta informação sugere que o etanol extrai o óleo da torta de maneira mais efetiva.

Com o emprego da extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão, há a possibilidade de retirar além de parte do óleo residual, outros componentes da torta, os quais podem ser produtos importantes para agregar valores à ricinoquímica.

### **3.3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS EXTRATOS OBTIDOS POR CO<sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO**

Os extratos obtidos por CO<sub>2</sub> a alta pressão foram caracterizados por cromatografia (GC-MSD) e por espectroscopia (HATR-FTIR e H<sup>1</sup>NMR).

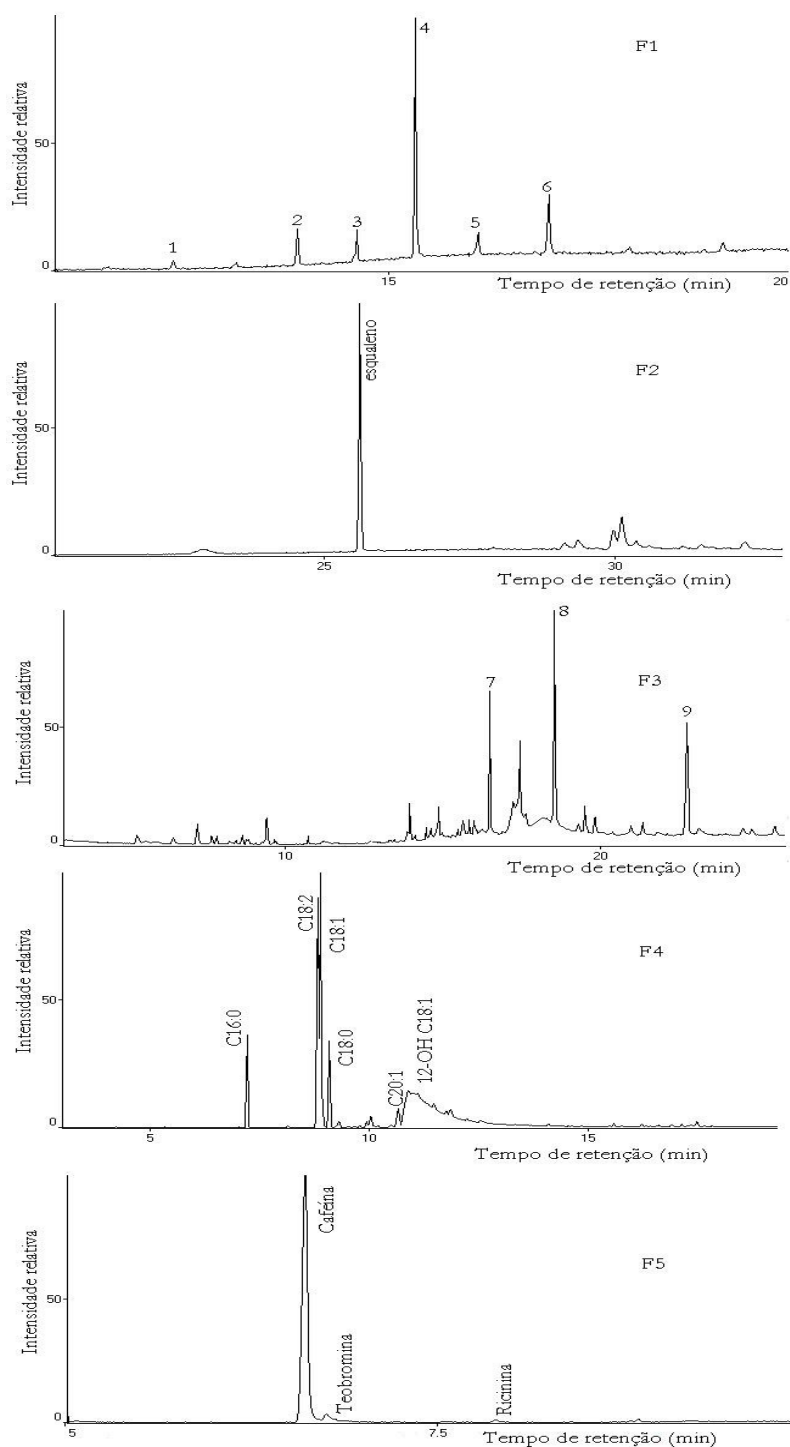
#### **3.3.2.1 ANÁLISE CROMATOGRÁFICA – GC-MSD**

Na caracterização dos extratos obtidos por CO<sub>2</sub> a alta pressão, foi possível identificar alguns componentes que não são separados no óleo de rícino obtidos na extração por prensagem e por solvente.

Nos cromatogramas dos experimentos de 1 a 5, observou-se um número maior de componentes no estudo 2, realizado em condições de CO<sub>2</sub> a 250 bar e 20<sup>o</sup>C, seguido do estudo 5, realizado com CO<sub>2</sub> a 250 bar e 50<sup>o</sup>C.



Na Figura 54, observa-se os cromatogramas relativos a amostra do estudo 2, submetidos à separação em coluna com os solventes hexano (F1), hexano-benzeno (F2), diclorometano (F3), acetato de etila (F4) e metanol (F5).



**Figura 54:** Cromatograma do íon total (TIC) dos extratos F1, F2, F3, F4 e F5 do estudo 2 da extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão.

Um dos resultados mais surpreendentes foi a identificação da cafeína na última fração eluída (F5). Inicialmente cristais brancos foram observados após a evaporação do solvente, sugerindo a presença de ricinina, no entanto a análise cromatográfica identificou a presença de cafeína. Na mesma fração, a ricinina e a teobromina estavam presentes em menor concentração.

Salienta-se que não foram realizadas investigações com o objetivo de saber qual é o conteúdo total de ricinina nas sementes; logo não é possível concluir se a cafeína separada está ou não em quantidades superiores. Inclusive, as condições de extração podem ter sido mais favoráveis à solubilização em CO<sub>2</sub> da cafeína do que da ricinina.

A partir deste resultado, verifica-se que há a necessidade de, no futuro investigar a presença de alcalóides nas partes aéreas da mamona, inclusive a semente, já que há informações apenas com relação à ricinina como um alcalóide contido em sementes de mamona. Além disso, a semente pode ser quatro vezes mais tóxica que as folhas e os sinais de intoxicação com o fruto sugerem presença de substâncias estimulantes do sistema nervoso central<sup>14,15,17</sup>.

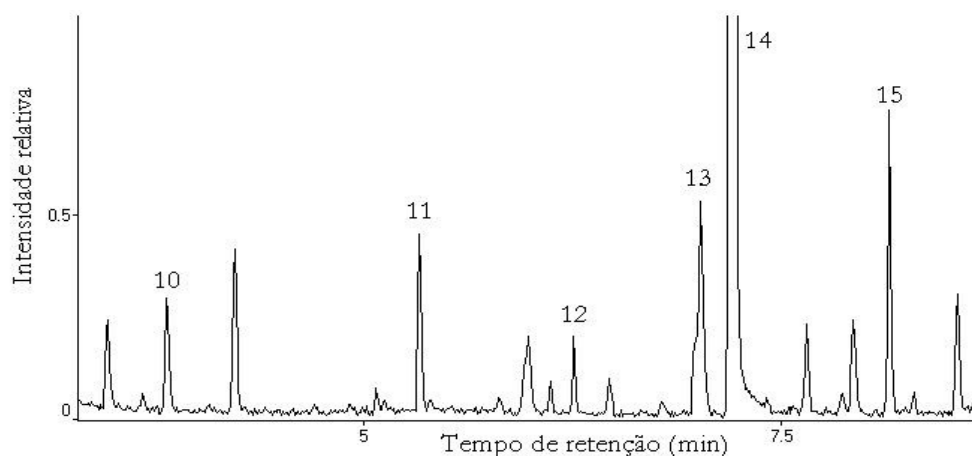
Com as frações F1, F2 e F3 dos estudos 1 a 5, observaram-se vários componentes dos extratos, com destaque à presença do esqualeno, na F2.

A F4 de todas as amostras foi composta principalmente de óleo, no qual se identifica a presença dos glicerídeos formados pelos ácidos palmítico, oléico, linoléico, esteárico e ricinoléico similar ao observado na Figura 41 do *item 3.2.3*.

Constatou-se, também na F4, que além de outros ácidos não identificados em concentrações baixas, há o ácido eicosenóico (C20:1), todos mostrados através de ampliação da Figura 55.

Com 95% de similaridade entre os espectros de massas e os espectros da Biblioteca Wiley 229, os ésteres metílicos identificados na Figura 55 são dos ácidos

azelaico (10), pentadecanóico (12), e heptadecanóico (15). Os ácidos mirístico (11) e palmitoléico (13) foram identificados por comparação com seus respectivos padrões, assim como foi realizado para o palmítico (14) e outros ácidos comumente detectados no óleo de rícino. Os espectros de massas das substâncias separadas e identificadas estão no ANEXO F.



**Figura 55:** Ampliação do Cromatograma do íon total (TIC) do extrato F4 do estudo 2 da extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão.

Nas amostras dos estudos 6 a 15, com aparência de óleo de rícino, foi possível identificar: o esqualeno e os ácidos graxos C16:0, C18:0, C18:1, C18:2 e 12-OH 9-C18:1. Nas frações F1 e F3 da maioria dos experimentos, não foi encontrado nenhum componente.

Pela análise por GC-MSD não foram detectadas diferenças na constituição do extrato das amostras 6 a 8, com relação às amostras 9 a 11 correspondentes às tortas e às respectivas sementes dos cultivares G1, T1 e C1.

Diferenças foram observadas nos extratos obtidos das sementes sem tegumento dos cultivares G1 e C1, equivalentes aos estudos 12 e 13, comparativamente aos estudos 9 e 11 onde o tegumento foi mantido. Com as sementes sem tegumento, os compostos separados foram quase que exclusivamente os ácidos graxos característicos do óleo de rícino.

Observa-se assim que os ácidos graxos foram oriundos da baga e os outros componentes encontrados nos estudos anteriores foram, prioritariamente, do tegumento.

Como havia sido constatado nos resultados de rendimento, quando a torta foi previamente extraída com solvente (hexano ou etanol), estudos 14 e 15, ainda havia óleo remanescente.

As mesmas amostras, ao serem fracionadas em coluna, apresentaram na F4 os mesmos ácidos observados na F4 do estudo 3, que não sofreu prévia extração por solvente, mostrando que na extração por solvente ainda fica óleo na torta.

### **3.3.2.2 ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO**

As diferentes frações obtidas da extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão, apresentaram os espectros no infravermelho semelhantes aos obtidos para o óleo de rícino.

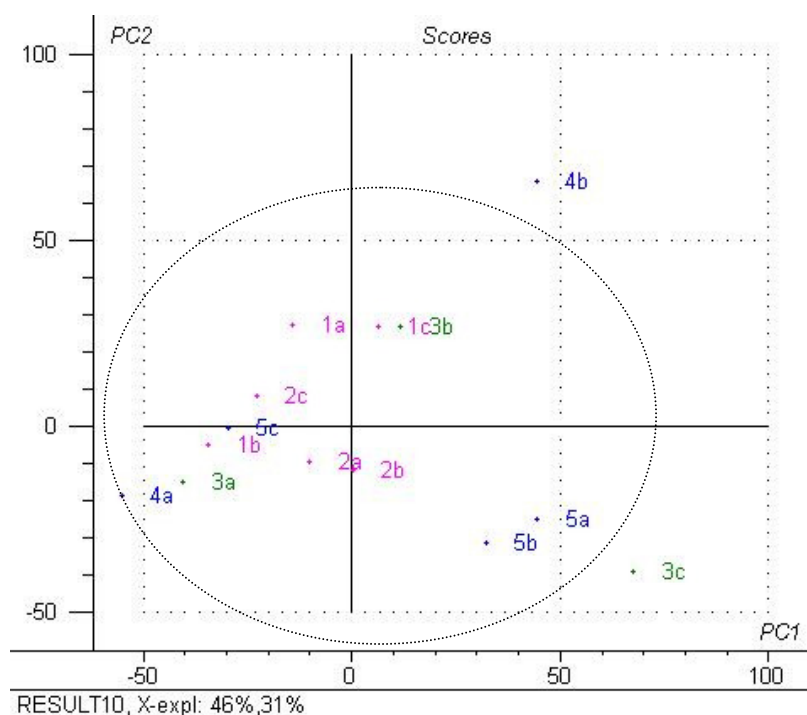
Os sinais analíticos dos demais componentes dos extratos podem ou não ser visualizados diretamente nos espectros, devido a intensidade das bandas.

Por outro lado, diferentes intensidades de bandas também podem fornecer informações adicionais, quando tratadas por quimiometria.

Desta forma, com a matriz de dados formada com os espectros no infravermelho das amostras dos estudos 1 a 15 coletadas a cada 30 min de extração (a, b, c), realizou-se a análise por componentes principais, obtendo-se os gráficos das Figuras 56 e 57.

Pela análise exploratória, constata-se que os estudos que avaliam as condições de pressão e temperatura (1 a 5) não discriminam uma condição mais ou

menos favorável à extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão. Reconhece-se que a constituição química dos extratos foi semelhante.

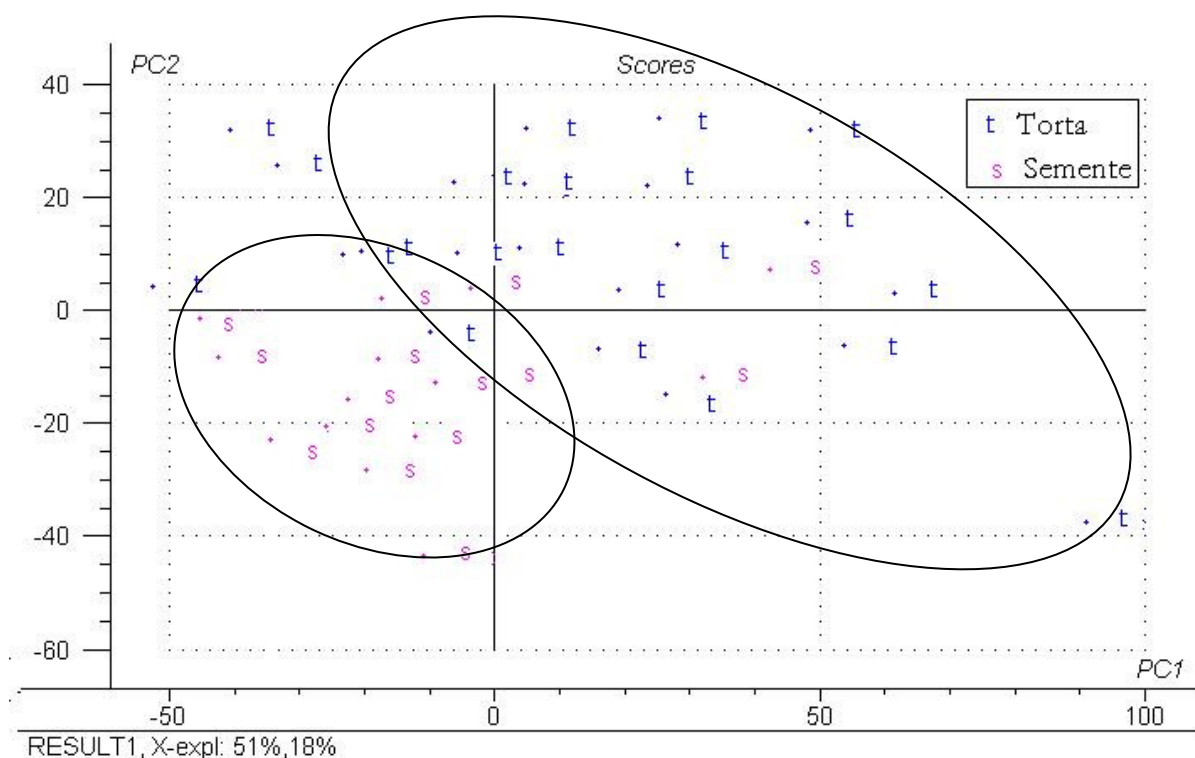


**Figura 56:** Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras dos estudos 1 a 5.

O emprego de HATR-FTIR-PCA demonstrou que não há uma discriminação das amostras em classes, com relação às condições do planejamento experimental. Portanto, as condições de pressão e temperatura do ponto central do planejamento experimental (estudo 3), podem ser utilizadas para avaliar outras variáveis como a proveniência dos extratos, ou seja, se os extratos foram obtidos de torta ou diretamente da semente triturada.

Assim, ao modelar os estudos de 1 a 15, também foi observado que não havia discriminação com relação a pressão e temperatura utilizados na extração por CO<sub>2</sub>. Por outro lado, houve a discriminação de duas classes, com respeito ao tipo de amostra utilizada na extração. Uma classe era das amostras de sementes, que foram trituradas e extraídas com CO<sub>2</sub> a alta pressão, e a outra, era constituída de amostras de torta – semente previamente extraídas por prensagem -, como mostra

a Figura 57. Nesta Figura, observa-se com menor contribuição da PC2, os extratos das sementes extraídos por CO<sub>2</sub> a alta pressão.



**Figura 57:** Gráfico bivariado PC1 x PC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras dos estudos 1 a 15.

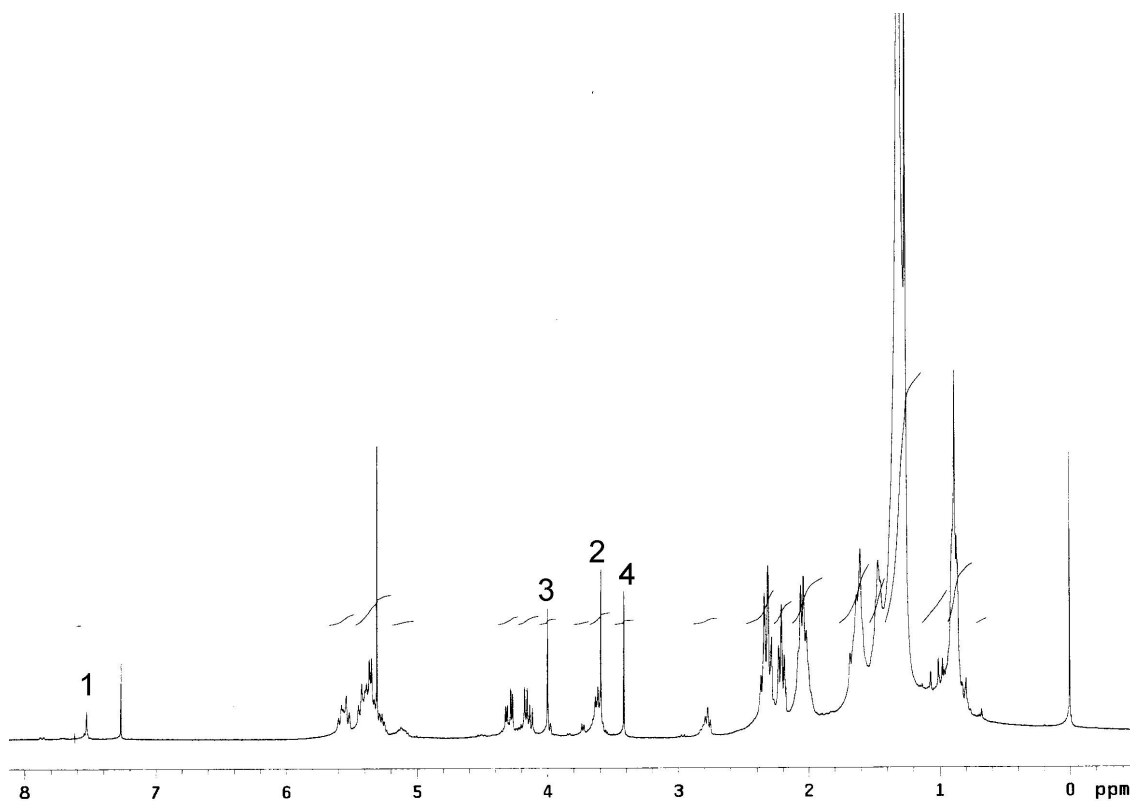
### 3.3.2.3 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE <sup>1</sup>H

Avaliando os estudos de 1 a 15, foram identificados os sinais dos triacilgliceróis presentes no óleo de rícino, no entanto, observaram-se outros sinais, alguns sobrepostos aos do óleo, que comprovam a existência de outras substâncias, conforme Figura 61.

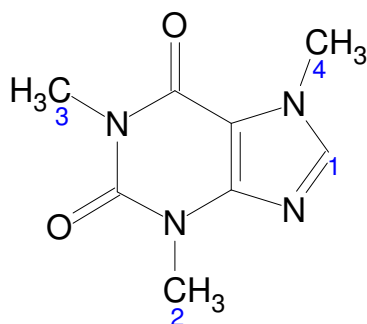
Nos experimentos de 1 a 5, onde foi identificada a presença de cafeína por GC-MSD, observa-se também que no espectro de <sup>1</sup>H NMR (Figura 58), há um conjunto de quatro ressonâncias - identificadas como sendo da cafeína por

comparação com o espectro simulado deste composto.

Assim, os hidrogênios metílicos (3, 2 e 4) da Figura 59 foram observados em 3,4 ppm, 3,6 ppm e 4 ppm, respectivamente. O singlete, do hidrogênio metínico (1) apareceu em torno de 7,5 ppm<sup>n</sup>.



**Figura 58:** Espectros de  $^1\text{H}$  NMR do produto da extração realizada a 250bar e 20<sup>o</sup>C (estudo 2).

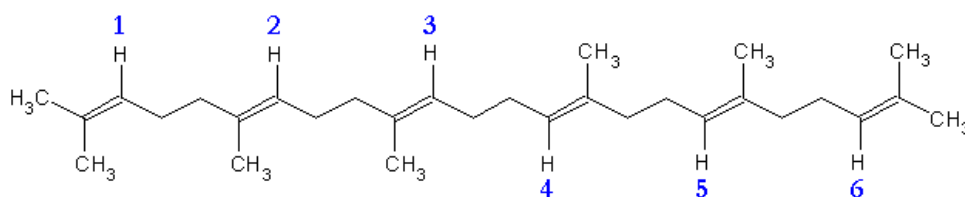


**Figura 59:** Fórmula estrutural da cafeína.

Nos espectros dos estudos 2, 3, 5 a 8, 11 e 12, observou-se um singlete em 5,2 ppm, como mostra a Figura 58, o qual, se refere aos prótons 1 a 6 do esqualeno, conforme Figura 60. As metilas, nas diferentes posições na molécula, encontram-se sobrepostas às ressonâncias entre 1,5 e 2 ppm.

A importância do esqualeno se dá pela diversidade de metabólicos dos quais é precursor, devido à possibilidade de produzir diferentes estruturas cíclicas.

O azeite de oliva é o óleo vegetal que contém as maiores concentrações deste componente, variando de 136 a 708 mg/100g de azeite. O óleo de oliva extravirgem apresenta uma concentração de 424 mg/100g, o virgem refinado 340 mg/100g e os óleos de semente apenas 24 mg/100g<sup>†</sup>.



**Figura 60:** Fórmula estrutural do esqualeno.

Por cálculos do número de duplas por mol, foi possível quantificar o número de insaturações dos glicerídeos presentes no óleo e também confirmar que os extratos são enriquecidos com ácidos não hidroxilados, como o C18:0, C18:1, C18:2 e C18:3.

Observa-se principalmente uma maior quantidade de poliinsaturados com relação ao conteúdo total de óleo, como foi constatado por cromatografia (Tabela XXVIII).

---

<sup>†</sup> <http://boasaude.uol.com.br/lib/>



Também foi possível calcular a quantidade de grupos metilênicos entre duplas, devido a uma concentração maior de C18:2 e C18:3 no total de ácidos graxos extraídos.

**TABELA XXVIII** -Número de insaturações e de hidroxilas dos acilgliceróis dos extratos obtidos por CO<sub>2</sub> a alta pressão.

ESTUDOS	INSATURAÇÕES (duplas/mol)	HIDROXILAS (OH/mol)	POLIINSATURADOS (CH <sub>2</sub> entre duplas/mol)
1	4,1	-	0,2
2	4,0	-	0,4
3	4,6	2,6	0,8
4	4,3	2,3	0,7
5	3,5	2,3	0,4
6	4,5	3,1	0,6
7	4,0	2,3	0,4
8	4,0	2,2	0,8
9	3,4	2,0	0,4
10	3,6	2,1	0,4
11	4,2	2,1	0,4
12	4,2	2,1	0,3
13	3,8	2,2	0,4
14	3,5	1,9	0,5
15	3,6	2,2	0,9
Óleo de rícino	3,2	2,7	0,0*

\* O sinal observado no <sup>1</sup>H NMR é muito pequeno, não sendo possível integrar.

De modo geral, e mais intensamente no estudo 2, há sobreposição das ressonâncias dos hidrogênios em aproximadamente 5,3 e 3,6 ppm.

Mesmo assim, verifica-se que em todos os experimentos há um aumento na quantidade de insaturações e diminuição das hidroxilas, comparado aos resultados encontrados com o óleo de rícino. O que indica uma menor solubilidade da triricinoleína no CO<sub>2</sub> a alta pressão, comparado com os acilgliceróis que contêm os outros ácidos graxos identificados por GC-MSD.

### 3.3.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A EXTRAÇÃO POR CO<sub>2</sub> A ALTA PRESSÃO

Constatou-se que por CO<sub>2</sub> a alta pressão, o extrato apresenta qualidade diferente do óleo de rícino obtido por métodos clássicos.

Conforme a proposta inicial de trabalho, a qualidade do óleo sendo diferente, haveria interesse em conduzi-lo a transformações químicas como a etanólise. No entanto, o rendimento deveria ser mais alto do que foi obtido.

Constatou-se também que o rendimento do extrato dependeu das condições de pressão e temperatura em que foi realizada a extração e por HATR/FTIR/PCA foi possível classificar os extratos que foram extraídos de torta de mamona dos extratos obtidos diretamente da semente triturada.

Todavia, os produtos identificados no extrato abrem caminhos para novas investigações com a semente e a torta obtida na prensagem.

Cabe, no futuro, investigar detalhadamente o conteúdo em alcalóides que as sementes de variedades diferentes de mamona apresentam, assim como, quanto destes alcalóides são cafeína ou ricinina e, também, o percentual que é extraído nos diferentes métodos de extração.

De acordo com a literatura<sup>278</sup>, de 1 a 55% do total das substâncias tóxicas da mamona podem ser extraídas com o óleo, dependendo do método empregado.

Quanto à metodologia de extração por CO<sub>2</sub> a alta pressão, se for utilizada para extração do óleo de rícino, deverá ser modificada, visando aumentar a solubilidade da triricinoleína no fluido.

### **3.4 TRANSFORMAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO**

Os estudos referentes à transformação do óleo de rícino enfocaram os processos de hidrogenação por CTH e etanólise via enzimática.

#### **3.4.1 HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA POR TRANSFERÊNCIA DE HIDROGÊNIO - CTH**

Os experimentos realizados com o óleo de rícino objetivaram o reconhecimento das potencialidades da CTH com Pd/C 10% como sistema catalítico. Avaliaram-se o comportamento de dois solventes doadores de hidrogênio com P.E. bastante distintos e as condições reacionais.

Os solventes doadores de hidrogênio utilizados foram o limoneno e o cicloexeno.

##### **3.4.1.1 SOLVENTE DOADOR - LIMONENO**

O limoneno é um doador de hidrogênios que, até este trabalho, não havia sido empregado na redução de duplas ligações de óleos vegetais.

Trata-se de um monoterpeneo, principal constituinte do óleo essencial de frutas cítricas, sendo fornecido como subproduto da indústria de sucos, em particular de laranja, sendo uma matéria prima de fonte renovável. Além de ser de fácil manipulação, o limoneno também pode ser utilizado como solvente de reação. Já tem sido utilizado com sucesso com o sistema Pd/C 10%, havendo propostas de mecanismo de interação doador – acceptor na literatura<sup>279</sup>.

Nas reações com limoneno e Pd/C como sistema catalítico, as condições otimizadas foram banho de óleo à temperatura de 178<sup>o</sup>C, agitação magnética, adição dos reagentes no reator na ordem: óleo, catalisador e doador, tempo de reação de 1h, concentração de catalisador de 2% molar em relação à massa de óleo e de óleo – solvente doador de 1:3.

Para que um óleo tenha suas insaturações reduzidas, a temperatura deve ser satisfatória para a ativação do catalisador e aumento da solubilidade do hidrogênio no meio reacional. No caso da CTH, a temperatura deve favorecer a transferência de hidrogênio de um doador facilitando a desorção dos doadores e aceptores da superfície catalítica<sup>110</sup>.

Observou-se na Tabela XXIX que o limoneno atuou como doador de hidrogênio de 160 a 178<sup>o</sup>C. A melhor condição foi a 178<sup>o</sup>C, entretanto, nesta temperatura, o produto principal de transformação do óleo foi o ácido cetoesteárico e isômeros do ácido oléico.

**TABELA XXIX** - Produtos das reações realizadas com limoneno como doador e a temperaturas diferentes.

PRODUTO (%)	TEMPERATURA (°C)		
	160	170	178
Ácido cetoesteárico <sup>a</sup>	28	43	48
Ácido hidroxiesteárico <sup>a</sup>	0	11	10
Acido esteárico <sup>a</sup>	2	4	16
Ácido oléico (isômeros) <sup>a</sup>	27	33	20
Acido ricinoléico	33	7	0
Outros	10	3	3
Hidrogenação <sup>b</sup>	35	62	68
OH remanescente <sup>b</sup>	40	20	12

*Reações realizadas com limoneno-óleo (1:3), partindo-se de 3g de óleo, agitação magnética, 1% de Pd/C por 1h. (a- obtidos por GC-MSD; b – obtidos por <sup>1</sup>H NMR)*

A temperatura reacional demonstrou ser um fator determinante pois, quando inferior à temperatura de ebulição do limoneno não houve reprodutibilidade dos resultados. Constatou-se uma variação, principalmente, na quantidade de isômeros

do ácido oléico formado e na quantidade de ácido ricinoléico remanescente, o que indica que, apesar das reações terem sido realizadas com as mesmas temperaturas e velocidade de agitação, além da mesma concentração de cada reagente adicionado no sistema, o estágio em que se encontrava a transformação química não era o mesmo.

Sugere-se que este resultado seja um efeito da disponibilidade de limoneno que efetivamente esteja interagindo com o Pd. Quando em ebulição, ocorre um equilíbrio entre a fase líquida e a fase vapor que é quando a quantidade de limoneno disponível para a hidrogenação do óleo torna-se constante. Assim, alcançou-se a reprodutibilidade dos resultados quando as reações foram realizadas na temperatura de ebulição do limoneno (Tabela XXX).

A 170°C, observa-se diferenças no grau de hidrogenação superiores a 20% e na quantidade de OH remanescente, na forma de ácido hidroxiesteárico e/ou de ácido ricinoléico, superiores a 30%. As outras temperaturas testadas foram de 120, 130 e 140°C, nas quais não houve transformação do óleo.

**TABELA XXX** - Grau de hidrogenação e teor de OH remanescente obtidos em reação realizada em triplicada a 170°C e 178°C.

PARÂMETRO	AMOSTRA	TEMPERATURA (°C)	
		170	178
Grau de hidrogenação * (%)	1	72	67
	2	49	66
	3	55	67
OH remanescente (%)	1	13	13
	2	39	10
	3	49	16

\* Refere-se a conversão das duplas ligações presentes nos triacilgliceróis.

Conforme estes resultados, a temperatura possui um papel muito importante em reações de hidrogenação, pois influencia diretamente nos resultados e na velocidade de reação.

Logo, a formação de ácido cetosteárico ocorreu em diferentes temperaturas (Tabela XXIX) e diferentes tempos de reação (Tabela XXXI). Contudo, constatou-se que após 1 hora de reação as mudanças nas proporções dos produtos quase não ocorrem.

**TABELA XXXI** - Proporção de ácidos graxos encontrados nas amostras obtidas de reações realizadas em diferentes tempos.

PRODUTO (%)	TEMPO (h)			
	0,5	1	2	3
Ácido cetosteárico <sup>a</sup>	33	43	47	44
Ácido hidroxiesteárico <sup>a</sup>	4	12	13	10
Ácido esteárico <sup>a</sup>	5	17	18	20
Ácido oleico (isômeros) <sup>a</sup>	20	23	20	24
Ácido ricinoleico <sup>a</sup>	33	0	0	0
Outros <sup>a</sup>	5	5	2	2
Hidrogenação <sup>b</sup>	52	74	78	78
OH remanescente <sup>b</sup>	44	12	13	12

*Reações realizadas com limoneno-óleo (1:3), partindo-se de 3g de óleo, agitação magnética, 2% de Pd/C 10%, 178°C. (a- obtidos por GC-MSD; b – obtidos por <sup>1</sup>H NMR).*

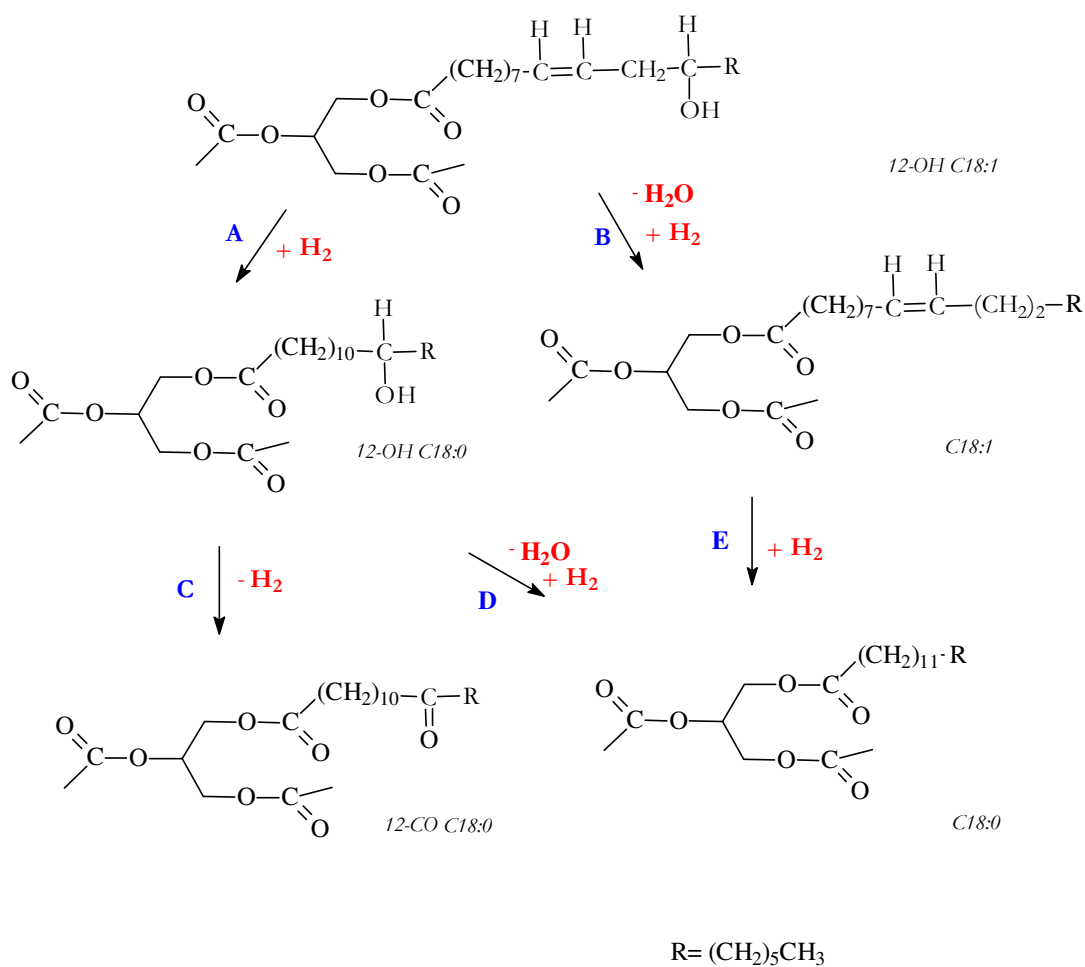
Deve-se também considerar a formação de C18:1 e C18:0, em concentrações superiores à soma de C18:0, C18:1, C18:2 e C18:3, existentes no óleo de partida, (~10%).

Com isto, verificou-se que na CTH com limoneno como solvente doador de hidrogênio e Pd/C 10% como sistema catalítico, pode ocorrer a desidratação seguida de hidrogenação ou vice-versa, do mesmo modo que Vishwanadham e colaboradores<sup>117</sup> observaram em um estudo cinético com 0,05 a 2% de Ni, usando H<sub>2</sub>(g) como fonte de hidrogênios.

Acrescenta-se ainda que, conforme observado nos cromatogramas, a reação de formação de cetosteáricos ocorre em uma seqüência de hidrogenação e desidrogenação, pois se ocorresse o contrário, haveria em determinado momento da reação, incidência da presença de cetoleatos. Isto nos leva a mesma conclusão de Freedman e colaboradores<sup>121</sup>, ao realizar a reação com Ni Raney, porém em

reação organometálica como foi descrita no *item 1.8*.

Portanto, a reação teria ocorrido no sentido da saturação dos diferentes ácidos insaturados presentes no óleo (A) e da desidrogenação da hidroxila presente no carbono 12 do ácido ricinoléico de partida, como mostra a Figura 61. Observou-se que a reação ocorria preferencialmente no caminho da reação A seguida da reação C.



**Figura 61:** Caminhos de reação na CTH do óleo de rícino empregando limoneno ou cicloexeno como solvente doador de hidrogênio e catalisador Pd/C.

Por outro lado, como este resultado pode ser devido à concentração de Pd no meio reacional, foram fixadas as outras variáveis como tempo, temperatura e concentração de doador e investigada a concentração do catalisador.

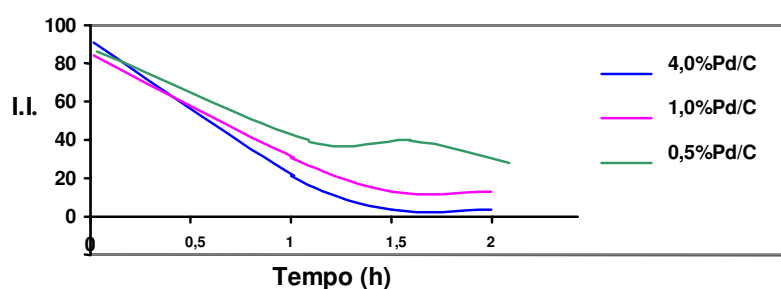
Observou-se que o aumento da concentração de Pd no meio caracterizou-se pelo aumento de formação dos ácidos: isômeros do C18:1, C18:0, ceto e hidroxiesteárico e redução da quantidade de ácido ricinoléico remanescente (Tabela XXXII).

**TABELA XXXII** - Produtos das reações realizadas em diferentes concentrações de Pd/C.

PRODUTOS (%)	Pd/C (%)					
	2,0	1,0	0,75	0,5	0,25	0,1
Ácido cetoesteárico <sup>a</sup>	43	46	34	26	11	10
Ácido hidroxiesteárico <sup>a</sup>	12	9	2	2	0	0
Ácido esteárico <sup>a</sup>	17	18	3	2	1	1
Ácido oleico (isômeros) <sup>a</sup>	23	21	28	25	18	15
Ácido ricinoléico <sup>a</sup>	0	0	20	34	57	63
Outros <sup>a</sup>	5	6	13	11	13	11
Hidrogenação <sup>b</sup>	74	70	36	24	7	6
OH remanescente <sup>b</sup>	12	9	25	38	65	72

Reações realizadas com óleo - limoneno (1:3), partindo-se de 3g de óleo, agitação magnética, tempo de 1h, 178<sup>o</sup>C. (a- obtidos por GC-MSD; b- obtidos por <sup>1</sup>H NMR).

Um estudo semelhante foi monitorado por intermédio da determinação do índice de iodo, para concentrações de 4, 1 e 0,5% de Pd/C (Figura 62).

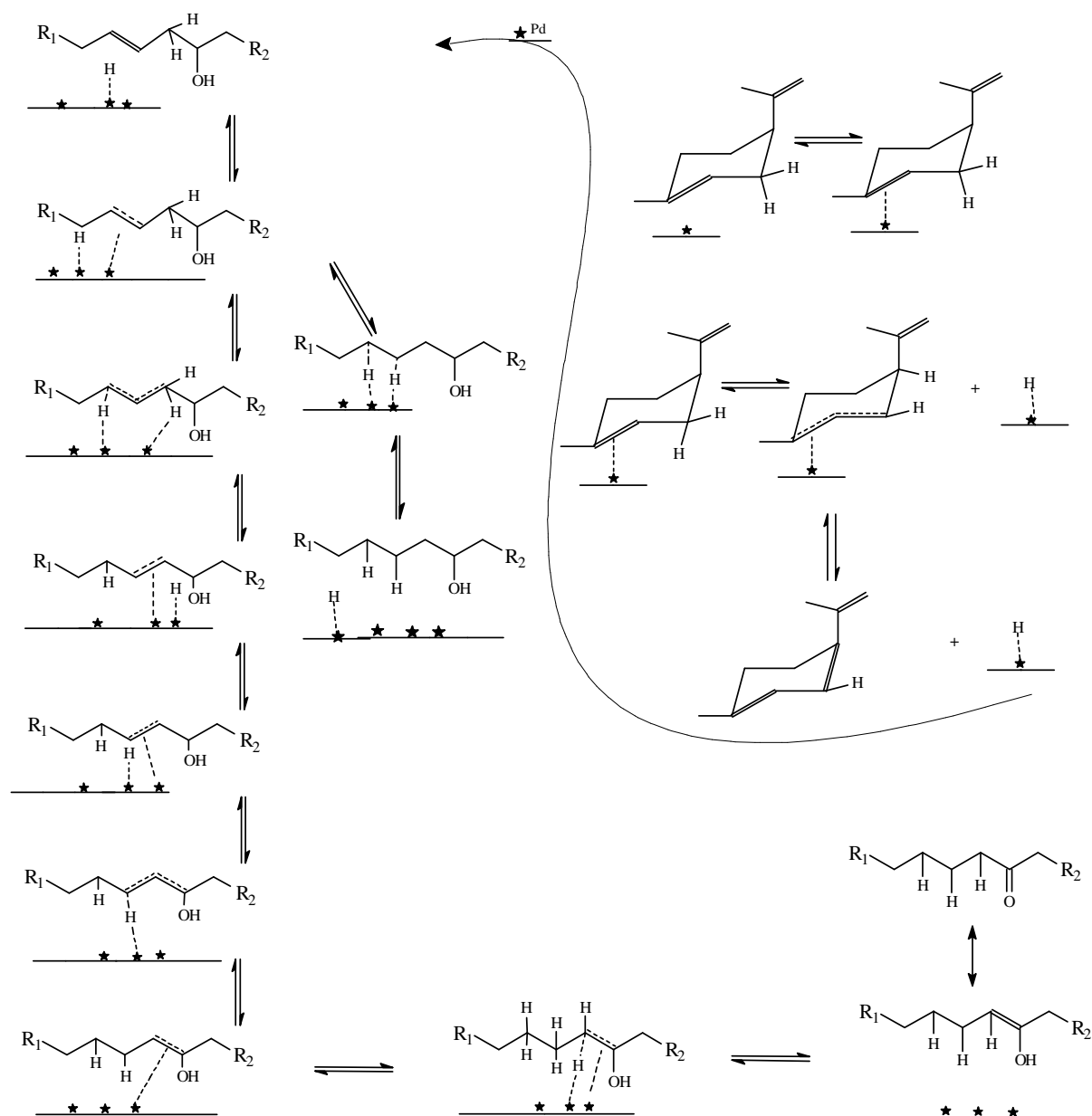


**Figura 62:** Variação do índice de iodo em função do tempo de amostras obtidas com diferentes percentuais de Pd/C.

Observou-se que, com uma concentração maior de catalisador, foi possível obter um produto mais saturado em um menor tempo.



Assim como foi proposto, na Figura 61, os caminhos da CTH do óleo de rícino empregando limoneno como solvente doador, propõe-se na Figura 63 um possível mecanismo de interação do óleo e doador na superfície do catalisador com relação a formação de ceto e hidróxiestearatos.



**Figura 63:** Proposta mecanística para a formação de hidróxi e cetoestearatos.

A reação teria iniciado com a desproporcionamento do limoneno, quando os hidrogênios adsorvidos na superfície ativa do Pd, foram transferidos, não para

outra molécula de limoneno, mas sim para as insaturações das acilas dos glicerídeos que também estavam adsorvidos na superfície do metal.

Nesta transferência ocorreria a hidrogenação de um dos carbonos adsorvidos, fazendo com que a insaturação migrasse para um carbono vizinho.

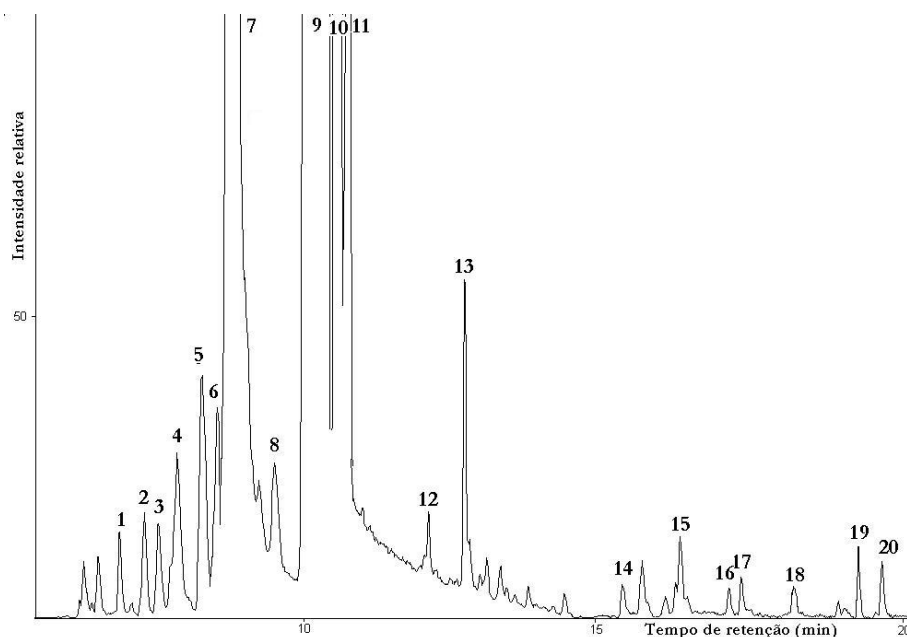
Consecutivas migrações<sup>147</sup>, até o carbono vizinho à hidroxila, promoveram a formação do equilíbrio ceto-enólico, demonstrado no mecanismo proposto.

#### **3.4.1.1.1 PRODUTOS DE DESPROPORCIONAÇÃO DO LIMONENO**

Quando foram realizadas as reações de hidrogenação do óleo de rícino, os produtos separados do meio reacional, oriundos do limoneno ou de reações sofridas por ele, foram analisados por SPME/GC-MSD. Tais substâncias estão representadas no cromatograma da Figura 64.

Ressalta-se que este método de extração e análise permitiu monitorar as reações de hidrogenação catalítica por transferência de hidrogênio, já que os produtos de desproporcionamento do limoneno, podem ser analisados mais rapidamente do que os produtos de transformação do óleo de rícino, os quais devem ser derivatizados antes de serem analisados por cromatografia gasosa.

No entanto, foi necessária a otimização do método já publicado, a qual foi publicada<sup>280</sup>.



**Figura 64:** Cromatograma do íon total (TIC) das substâncias extraídas na fase hexânica após a CTH do óleo de rícino com limoneno como solvente doador (1:3), 4% Pd/C e 178<sup>o</sup>C, 3horas.

As reações que foram monitoradas pelo método de extração otimizado permitiram constatar que durante a hidrogenação do óleo de rícino, há a formação principalmente, do *p*-cimeno (3), *p*-ment-4(8)-ene (2), *p*-ment-3-eno (1) e o *p*-ment-1-eno (4), apresentados anteriormente nas Figuras 18 e 19. Outros produtos formados, descritos na Tabela XXXIII, também foram observados na Figura 64.

O *p*-mentano, produto final de desproporção do limoneno, não foi observado nas reações em que houve redução das insaturações do óleo, mostrando que os hidrogênios foram preferencialmente consumidos pelo óleo.

À medida que a hidrogenação vai ocorrendo, a quantidade de limoneno no meio reacional é reduzida e aparece principalmente, o *p*-cimeno. Em uma reação com 2% de Pd/C, após 1 h, houve o consumo de 95% em limoneno.

Para verificar se os hidrogênios utilizados nas duplas ligações eram provenientes do limoneno, este foi substituído por um solvente não doador de hidrogênios, a decalina. Como não ocorreu transformação no óleo, teve-se a

indicação de que o limoneno é realmente a fonte fornecedora dos hidrogênios, conforme mostrado no mecanismo proposto.

O estudo foi complementado pelo experimento sem o uso de solvente. A ausência de reação entre óleo e o catalisador indica a necessidade de um agente doador de hidrogênio para que a reação proceda.

**TABELA XXXIII -** Compostos voláteis identificados no meio reacional por SPME/GC/MSD.

N <sup>o</sup>	COMPOSTOS	FÓRMULA	PM	CONTEÚDO RELATIVO (%) <sup>a</sup>			
				Limoneno de partida	Limoneno após reação com 2% Pd/C (178°C) <sup>c</sup>	Após reação com 0,5% Pd/C limoneno e óleo (178°C) <sup>c</sup>	Após reação com 2% Pd/C, limoneno e óleo (178°C) <sup>c</sup>
1	$\alpha$ -pineno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0,20	0,12	0,14	0,07
2	canfeno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	0,10	0,09	0,10	-
3	2-etil-oct-2-eno	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	0,12	0,05	0,12	0,11
4	2,6-dimetil-oct-2-eno	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	0,06	0,05	0,20	0,29
5	<i>cis-p</i> -mentano	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub>	140	0,51	24,01	0,17	0,32
6	<i>p</i> -ment-2-eno	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	0,16	0,11	0,13	0,21
7	<i>p</i> -ment-3-eno	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	0,50	1,20	5,46	12,37
8	<i>p</i> -ment-4(8)-eno	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	-	1,42	1,20	1,60
9	<i>p</i> -cimeno	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub>	134	0,20	67,13	22,48	73,44
10	<i>p</i> -ment-1-eno	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub>	138	-	2,00	2,82	7,13
11	limoneno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	97,32	3,04	62,97	4,12
12	<i>p</i> -mentadieno	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	136	-	0,08	0,30	-
13	<i>p</i> -cimenil	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub>	132	0,40	0,30	1,36	0,14
14	mentona	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0,04	0,10	0,36	-
15	metil-acetofenona	C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O	134	0,13	0,08	-	0,16
16	<i>cis</i> -dihidrocarvona <sup>a</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	0,02	0,03	0,41	-
17	carvomentona <sup>a</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O	154	0,02	0,04	0,35	-
18	carvona	C <sub>10</sub> H <sub>14</sub> O	150	0,02	0,03	-	-
19	carvenona <sup>a</sup>	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	0,08	0,10	-	-
20	carveol	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> O	152	0,03	0,05	0,45	-
$\Sigma$				99,91	99,87	99,02	99,80

<sup>a</sup> Percentual calculado com base no somatório das áreas de todos os picos separados, como 100%.

### **3.4.1.2 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DA CTH COM LIMONENO COMO DOADOR DE HIDROGÊNIO**

A caracterização foi realizada por  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR, GC-MSD e espectroscopia na região do infravermelho.

#### **3.4.1.2.1 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR DE $^1\text{H}$ E $^{13}\text{C}$**

Primeiramente destaca-se que por  $^1\text{H}$  NMR foram avaliados os produtos de hidrogenação, permitindo fazer os cálculos de hidrogenação e de OH remanescentes, como foram mostrados nas Tabelas XXIX a XXXIII. Cabe ainda caracterizar por  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR os produtos obtidos.

Nos espectros de  $^1\text{H}$  NMR, observou-se a redução dos hidrogênios vinílicos R9 e R10, representados no espectro por um multipeto centrado em 5,25 ppm.

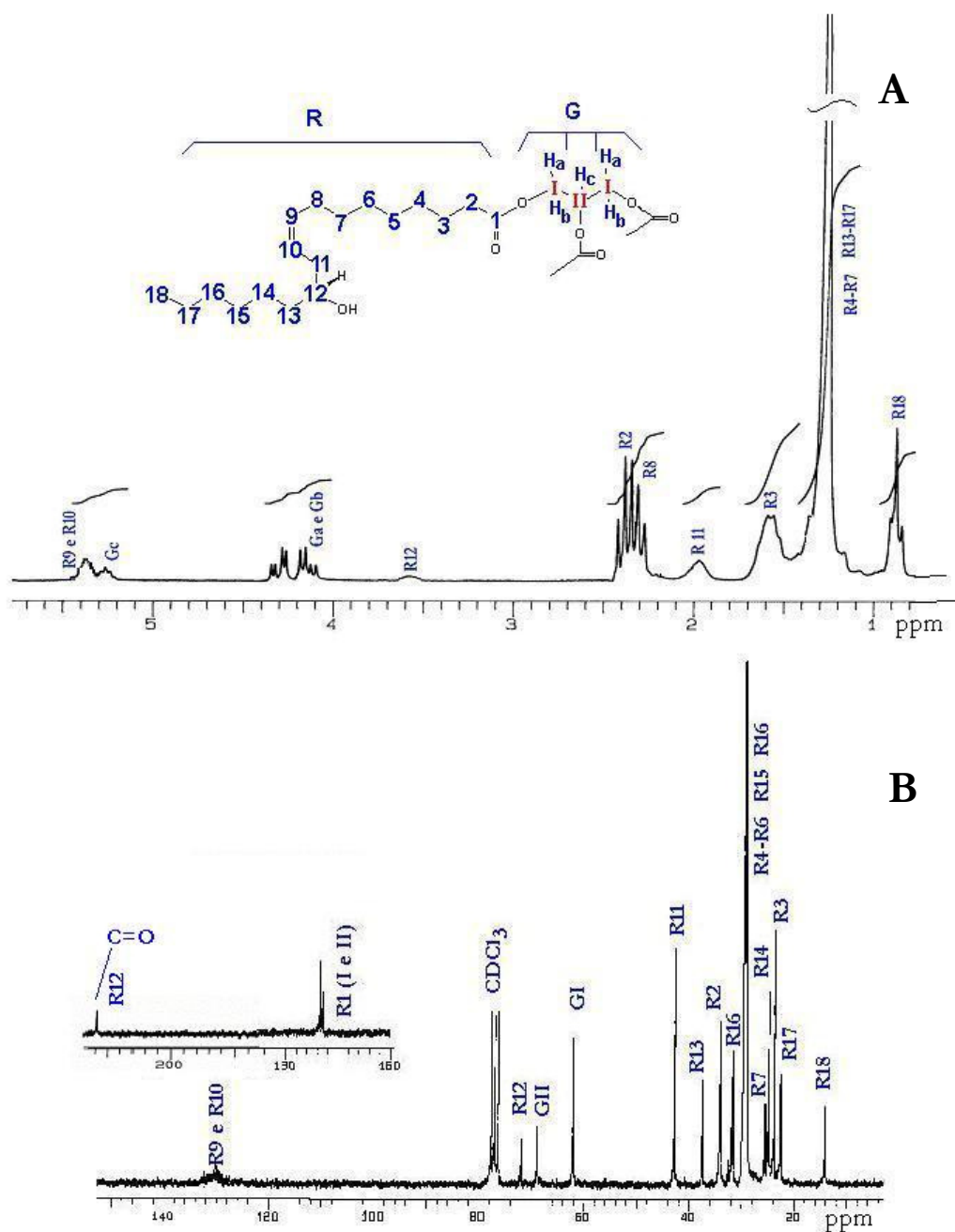
As ressonâncias dos hidrogênios metínicos dos carbonos ligados à hidroxila, foram observadas em 3,6 ppm como um multipeto, da mesma forma que no óleo de rícino de partida. Estas ressonâncias foram observadas no espectro da Figura 65-A.

Analisando-se paralelamente o espectro de  $^{13}\text{C}$  NMR, constatou-se que quando houve redução das insaturações do óleo, as ressonâncias referentes aos carbonos R9 e R10 não foram observados, ou foram menos intensas, em 133 e 125,5 ppm, respectivamente.

Na amostra apresentada na Figura 65-B, a ausência destes sinais indicou que a amostra estava totalmente hidrogenada.

Observou-se ainda a presença da OH, devido à ressonância do carbono R12

em 72 ppm, no entanto, com menos intensidade devido à formação do grupo cetônico, observado em 211 ppm, e confirmado pelo cálculo do deslocamento químico do carbono de carbonilas de meio de cadeia carbônica, como descreve Brown<sup>281</sup>.



**Figura 65:** A) Espectro de <sup>1</sup>H NMR do óleo parcialmente hidrogenado com 1:3 de óleo –limoneno, 1% de Pd/C, 178<sup>o</sup>C. B) Espectro de <sup>13</sup>C NMR do óleo de rícino hidrogenado com 1:3 de óleo –limoneno, 1% de Pd/C, 178<sup>o</sup>C.

Os carbonos R11 e R13, vizinhos do grupo cetona (R12), aparecem deslocados para aproximadamente 42 ppm e 38 ppm, respectivamente.

Nenhuma modificação foi observada nas ressonâncias referentes aos carbonos e aos hidrogênios GI e GII da triricinoleína, indicando que as transformações ocorreram entre os carbonos 9 e 12 do ácido ricinoléico.

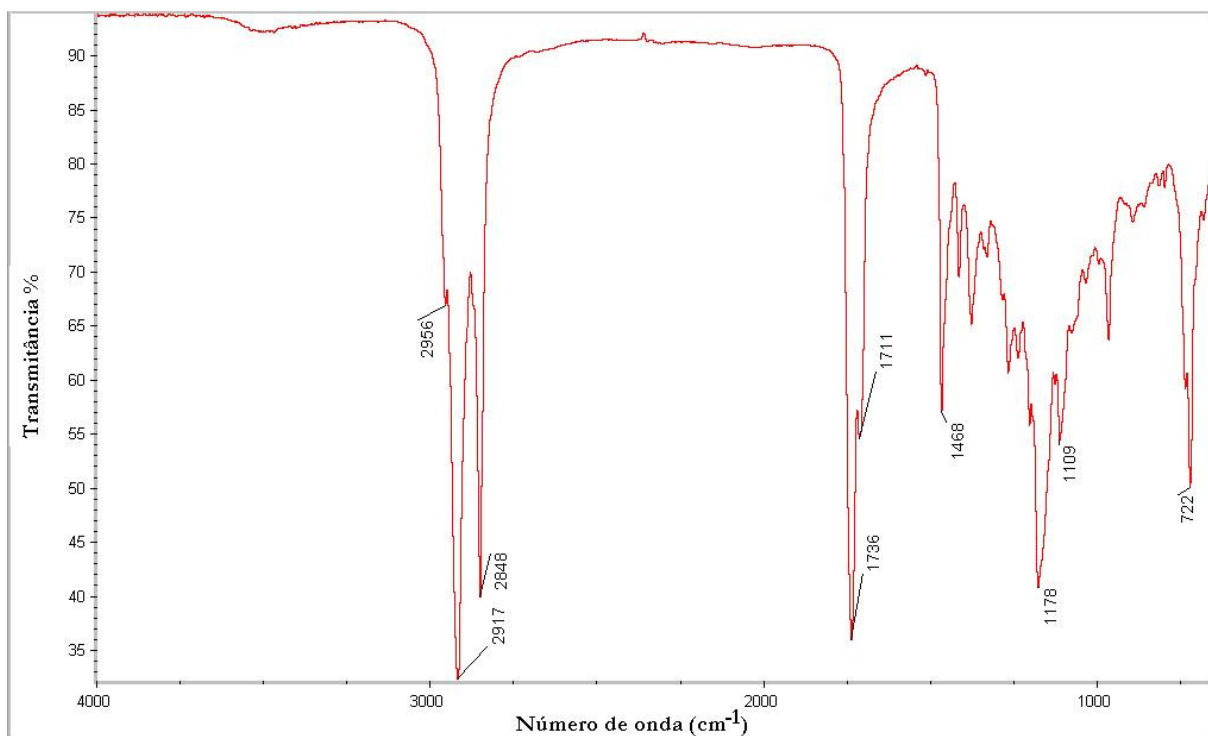
Observou-se, como ressalva a este comportamento, a formação de inúmeros isômeros de posição da insaturação, que devem estar em outros carbonos, os quais foram visualizados por GC-MSD.

#### 3.4.1.2.2 ESPECTROSCOPIA NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO

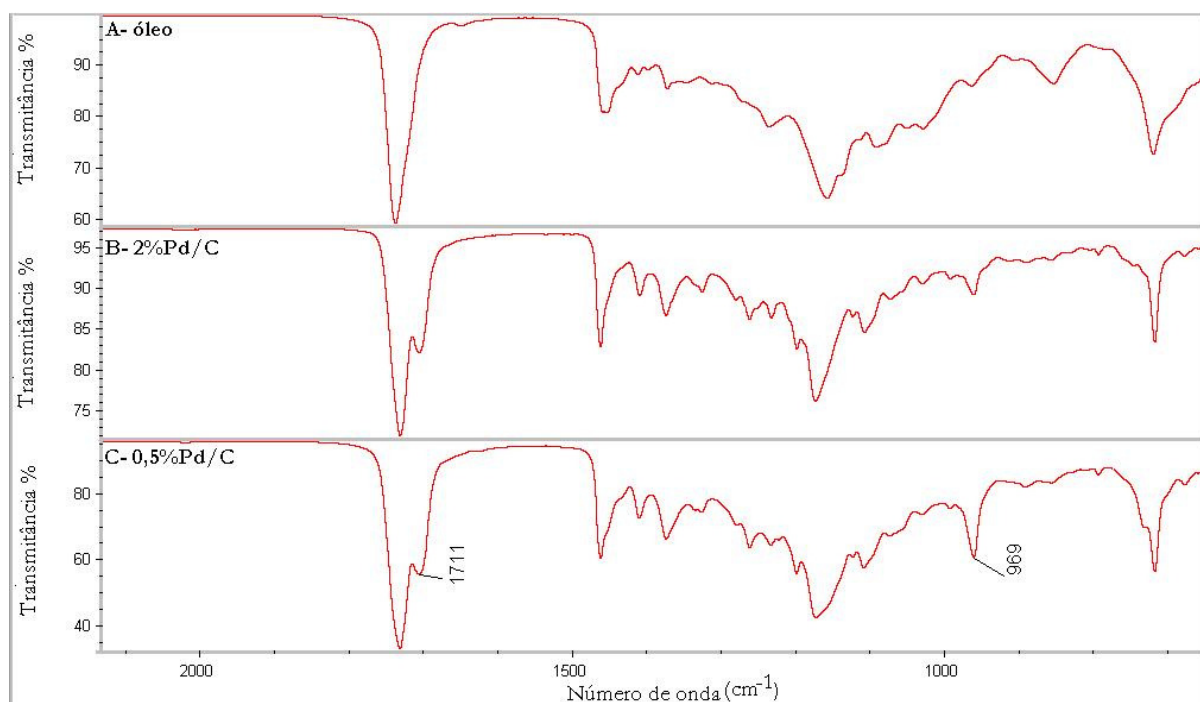
O óleo de rícino após a CTH com o limoneno como solvente doador de hidrogênio apresentou no espectro de infravermelho uma segunda banda de carbonila em  $1711\text{ cm}^{-1}$  atribuída ao grupo cetônico presente no carbono 12 da triricinoleína. As bandas que indicavam a presença de hidroxila em  $3379\text{ cm}^{-1}$  e das duplas ligações do óleo em  $3014\text{ cm}^{-1}$  e  $1652\text{ cm}^{-1}$  não foram observadas ou estavam em menor intensidades (Figura 66).

Observando as bandas dos espectros no infravermelho, observou-se em  $969\text{ cm}^{-1}$  uma banda que no óleo de rícino era muito fraca. Esta banda, segundo Sedman e colaboradores<sup>243</sup>, é um indicativo da presença de isômeros *trans* na amostra analisada.

Esta banda pode ser observada nos espectros ampliados de  $605$  a  $2200\text{ cm}^{-1}$  da Figura 67, obtidos para o óleo de rícino e óleo de rícino hidrogenado com 2 e 0,5% de Pd/C, e corresponde a vibração de deformação fora do plano =C-H de isômeros de dupla ligação na configuração *trans*<sup>245</sup>.



**Figura 66:** Espectro no infravermelho do óleo de rícino hidrogenado com limoneno como doador de hidrogênio



**Figura 67:** Ampliação dos espectros de FTIR do óleo de rícino(A) e do óleo de rícino hidrogenado (B e C), a 178<sup>o</sup>C e 1:3 óleo-limoneno.



A banda de estiramento do isômero *trans* ocorre em  $3033\text{ cm}^{-1}$  e do isômero *cis* em  $3010\text{ cm}^{-1}$ . Foram analisadas nas amostras, sendo que no óleo de partida ocorria a banda do isômero *cis* e que no óleo hidrogenado a banda correspondente do isômero *trans* não era detectada, pois pode estar sobreposta a banda larga do estiramento -OH.

Supostamente a presença de isômeros *trans* no óleo hidrogenado pode ser atribuída ao ácido eláídico e/ou ricinoeláídico, os quais foram identificados por GC-MSD. Destaca-se ainda que, entre as amostras analisadas, aquelas provenientes de reações de hidrogenação parcial apresentaram a banda próxima a  $970\text{ cm}^{-1}$ , mais intensa, a qual corresponde a presença de isômeros geométricos entre os produtos de reação.

#### **3.4.1.2.3 CROMATOGRAFIA GASOSA COM DETECTOR DE ESPECTROMETRIA DE MASSAS -GC-MSD**

Durante a hidrogenação, houve a conversão do ácido ricinoléico em hidroxiesteárico, cetoesteárico e esteárico, obtendo-se, de acordo com as condições experimentais empregadas, até 100% de conversão.

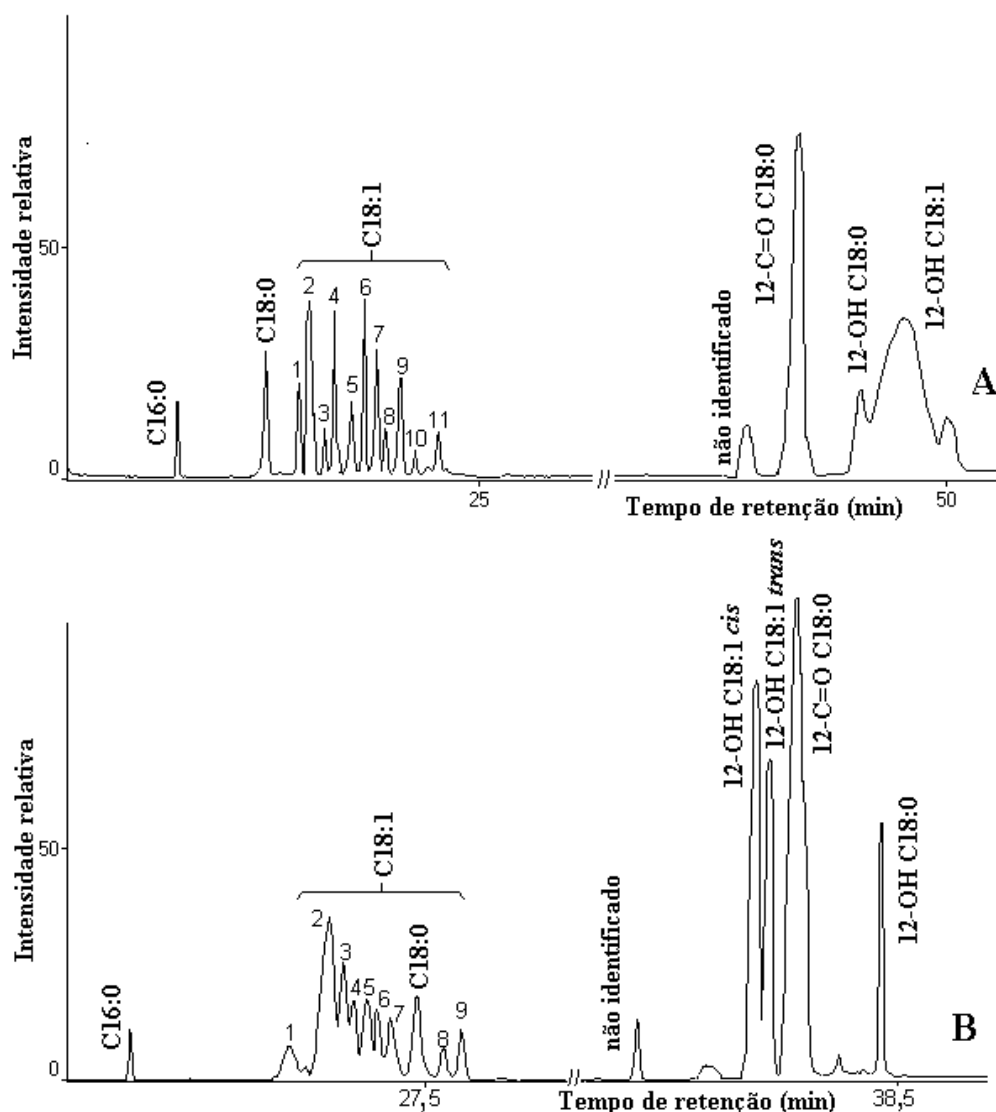
Quando a conversão do ácido ricinoléico foi total, constatou-se a presença de ácido esteárico, isômeros do ácido oléico, ácido cetoesteárico e hidroxiesteárico.

Nas conversões parciais (Figura 68), havia a presença do ácido ricinoléico e a formação de ácido ricinoeláídico, observados quando os ésteres metílicos foram derivatizados com BSA e analisados em uma coluna capilar de 60 m.

Quanto a separação dos isômeros do ácido oléico, foi necessário utilizar uma coluna polar, para separá-los com maior resolução. Por comparação com uma solução padrão, foi identificado o pico 2 da Figura 68-A, como sendo o do éster

metílico do ácido eláidico.

Portanto, a banda do espectro de FTIR que indicou a presença de isômeros *trans* nos produtos da CTH do óleo de rícino foi ratificada.

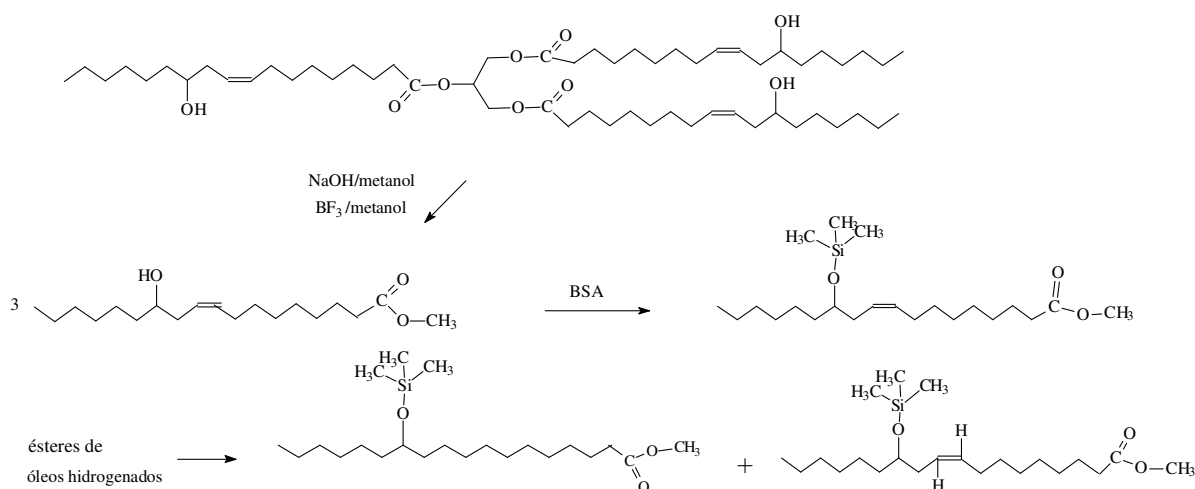


**Figura 68:** Cromatograma do íon total (TIC) dos ésteres metílicos dos produtos de CTH do óleo de rícino (0,5% Pd/C, 170°C, 1:3 óleo-limoneno) obtidos na otimização da separação dos isômeros formados. A) Coluna DB wax-20M e B) Coluna HP 5 após a derivatização com BSA.

Conforme foi discutido no *item 3.4.1.1.*, a presença dos isômeros do ácido oléico, melhor observados com a separação em uma coluna capilar polar, foi um indicativo de que durante a CTH ocorreu a formação de isômeros geométricos e de

posição do C18:1, oriundos da hidrogenação dos ácidos poliinsaturados (5%) do óleo e também da hidrogenação e desidratação do ácido ricinoléico.

Para o estudo dos produtos formados na CTH do óleo de rícino, empregando limoneno como solvente doador de hidrogênio e Pd/C como sistema catalítico, foi importante a análise dos produtos empregando a transesterificação com  $\text{BF}_3$ /metanol e a sililação com BSA (Figura 69), bem como a separação em diferentes colunas capilares<sup>282</sup>.



**Figura 69:** Produtos formados na derivatização do óleo de rícino e do óleo de rícino hidrogenado.

A formação de acilgliceróis com ácido ricinoelaídico, durante a CTH, deverá ser alvo de estudos no futuro, pois os ácidos graxos de configuração *trans*, como já foi apresentado no *item 1.7*, apresentam propriedades diferentes, devendo ser controlada a sua formação ou talvez favorecida, para produzir um composto com as características desejadas para uma determinada finalidade industrial.

Estes produtos observados por GC-MSD auxiliaram na definição da proposta dos mecanismos de reação apresentados anteriormente (Figuras 61 e 63).

### 3.4.1.3 SOLVENTE DOADOR - CICLOEXENO

Para avaliação da CTH do óleo de rícino, com o emprego de outro doador de hidrogênio, que desproporcionasse a uma temperatura inferior a do limoneno, foi selecionado o cicloexeno.

As variáveis avaliadas nos experimentos realizados com este solvente foram definidas conforme os estudos realizados com o limoneno.

Desta forma, avaliou-se a concentração de Pd e o tempo de reação. Por outro lado, alguns estudos preliminares foram necessários para avaliar a possibilidade de reação à temperatura ambiente ou a 65°C, como não houve reação, foi utilizada a temperatura de 80°C, correspondente à temperatura de desproporcionamento do cicloexeno.

Os produtos obtidos na hidrogenação do óleo foram os mesmos discutidos anteriormente, contudo suas concentrações foram diferentes, como mostra a Tabela XXXIV.

**TABELA XXXIV** - Proporção de ácidos graxos encontrados nos produtos de reações realizadas com diferentes concentrações de Pd/C e cicloexeno como doador de hidrogênio.

PRODUTO (%)	Pd/C			
	4	3	2	1
Ácido cetosteárico <sup>a</sup>	77	73	70	69
Ácido hidroxisteárico <sup>a</sup>	10	11	12	12
Ácido esteárico <sup>a</sup>	10	11	10	9
Ácido oléico (isômeros) <sup>a</sup>	1	1	1	1
Outros	2	4	7	9
Hidrogenação <sup>b</sup>	93	85	79	91
OH remanescente <sup>b</sup>	15	16	14	13

Reações realizadas com cicloexeno-óleo (1:3), partindo-se de 3g de óleo, agitação magnética, 80°C, 1h, (a- obtidos por GC-MSD; b – obtidos por <sup>1</sup>H NMR)

Na avaliação do tempo de reação, observou-se que a reação se completa na primeira hora, com a conversão total do ácido ricinoléico.

Os resultados encontrados com o cicloexeno levam à mesma formação de produtos obtidos com o limoneno como doador, ou seja, o produto principal, em todas as amostras caracterizadas, foi o ácido cetosteárico e o mecanismo proposto a partir do limoneno também satisfaz à condição de reação do cicloexeno.

#### **3.4.1.4 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS OBTIDOS COM CICLOEXENO COMO DOADOR**

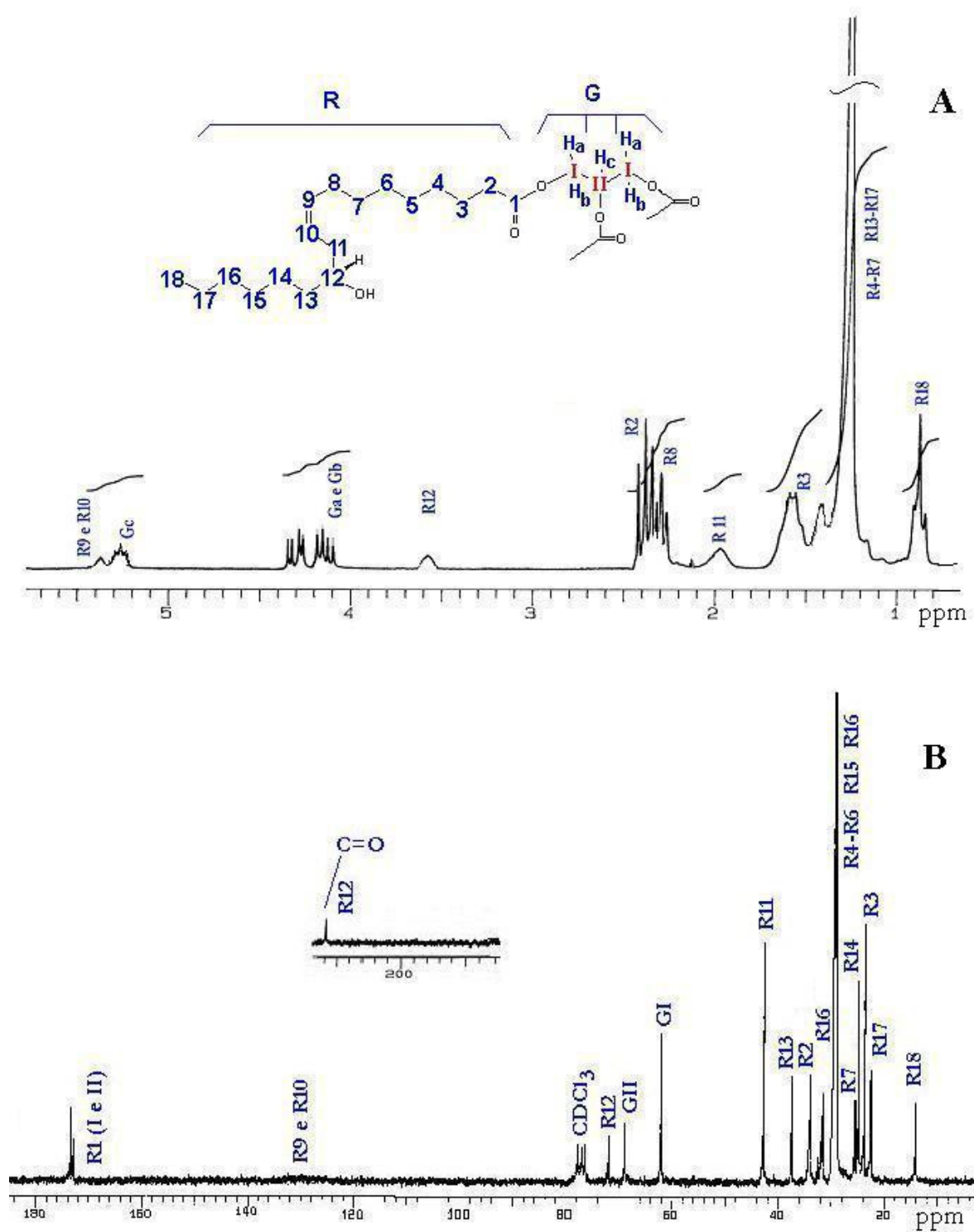
A caracterização foi realizada por  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR, GC-MSD e espectroscopia na região do infravermelho.

Por  $^{13}\text{C}$  e  $^1\text{H}$  NMR (Figura 70) constatou-se que a redução das ligações duplas foi total, pois em todas as amostras as ressonâncias dos carbonos e hidrogênios vinílicos não foram observadas exceto em alguns casos onde o valor da integral era muito baixo.

Por FTIR, observou-se as mesmas bandas dos produtos hidrogenados com o limoneno como solvente doador (Figura 66). Onde se destaca que:

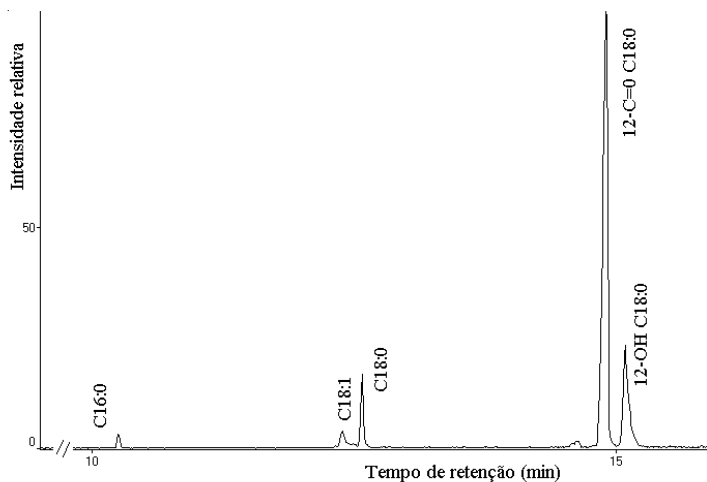
- as bandas das insaturações não foram observadas;
- a banda larga referente ao  $\nu$  -OH diminuiu;
- foram observadas duas bandas de carbonila.

Quanto à presença de isômeros *trans* no produto formado, não houve indícios nos espectros de FTIR e nem nos cromatogramas de GC-MSD.



**Figura 70:** Espectros de RMN: A) Espectro de  $^1\text{H}$  NMR do óleo hidrogenado com 1:3 de óleo -cicloexeno, 2% de Pd/C,  $80^\circ\text{C}$ . B) Espectro de  $^{13}\text{C}$  NMR do óleo de rícino hidrogenado com 1:3 de óleo -cicloexeno, 2% de Pd/C,  $80^\circ\text{C}$ .

Por GC-MSD as substâncias identificadas foram ésteres metílicos do ácido palmítico, de alguns isômeros do ácido oléico, do ácido esteárico, do cetoesteárico e do hidroxisteárico, conforme Figura 71.



**Figura 71:** Cromatograma do íon total (TIC) do produto da CHT do óleo de rícino empregando 1:3 de óleo-cicloexeno, 2%Pd/C, 80°C.

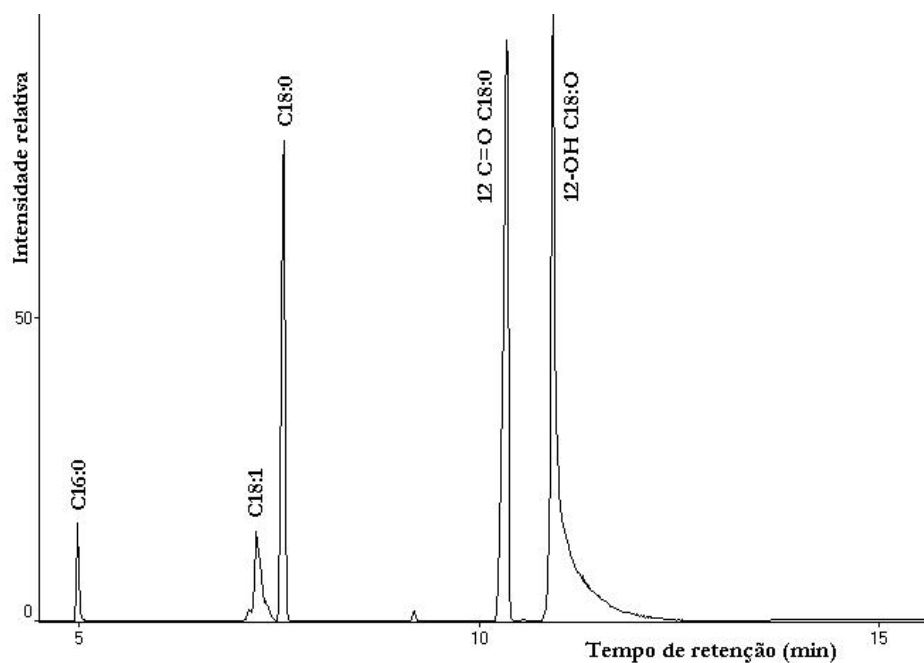
### 3.4.2 HIDROGENAÇÃO CATALÍTICA COM H<sub>2</sub>(g)

Com H<sub>2</sub>(g) o óleo hidrogenado apresenta a mesma constituição química da CTH apresentada nos *itens 3.4.1.1 e 3.4.1.3.*, porém com proporções diferentes.

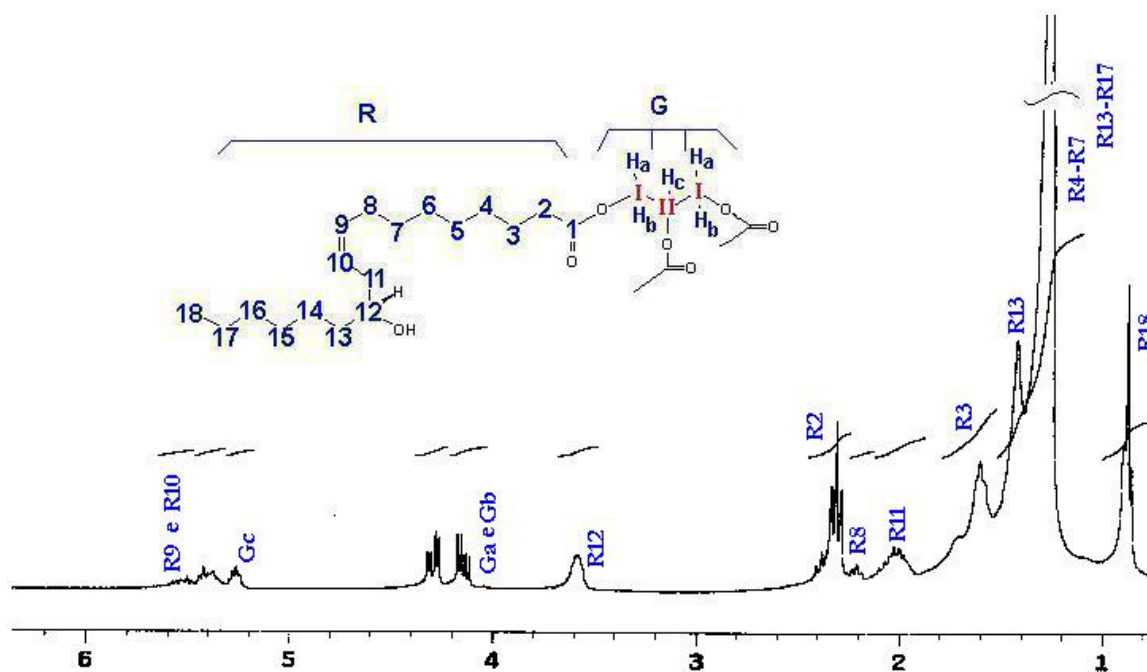
A avaliação dos produtos formados foi realizada principalmente por GC-MSD, obtendo-se o cromatograma conforme mostrado na Figura 72.

Assim, na temperatura ambiente e em condições de fluxo contínuo de H<sub>2</sub>(g), ocorre a conversão total do ácido ricinoléico, formando acilgliceróis com ácido cetoesteárico, hidroxisteárico e esteárico.

Os cromatogramas obtidos por GC-MSD, estavam em concordância com as ressonâncias observadas nos espectros de <sup>1</sup>H NMR (Figura 73).



**Figura 72:** Cromatograma do íon total (TIC) de uma amostra de óleo de rícino hidrogenado a partir de 2% Pd/C, 3h, 40mL/min de H<sub>2</sub>(g) e agitação magnética.



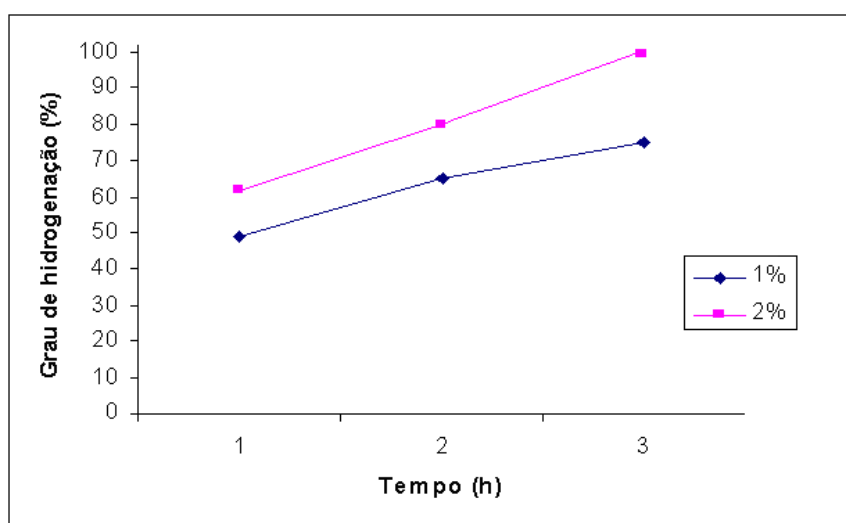
**Figura 73:** Espectro de <sup>1</sup>H NMR do óleo hidrogenado a partir de 2% Pd/C, 2h, 40mL/min de H<sub>2</sub>(g) e agitação magnética.



Na observação das bandas presentes nos espectros obtidos por HATR/FTIR, identificaram-se as bandas características da presença de hidroxilas, e de carbonila, não havendo indicações da presença de ligações duplas C-C.

Como as amostras analisadas eram de reações com 100% de conversão das duplas, a presença da banda em  $\sim 970\text{ cm}^{-1}$  não foi observada. Assim, a presença de isômeros geométricos formados na hidrogenação com  $\text{H}_2(\text{g})$ , a temperatura ambiente, deverá ser avaliada nos próximos trabalhos realizados, considerando um tempo de reação menor que 3h.

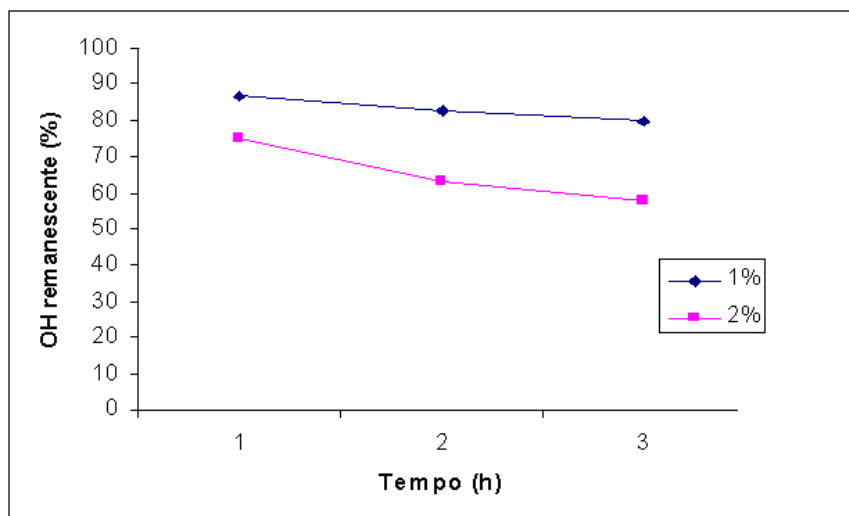
Por intermédio destes métodos instrumentais, foi possível constatar que as reações seguiram um caminho de conversão total da triricinoleína, formando hidroxiestearatos como componentes majoritários. Os resultados calculados a partir dos  $\text{RMN}^1\text{H}$ , estão apresentados nos gráficos das Figuras 74 e 75.



**Figura 74:** Grau de hidrogenação das reações de hidrogenação realizadas com 1 e 2% de Pd/C, à  $40\text{ mL min}^{-1}$  de  $\text{H}_2(\text{g})$  e  $25^\circ\text{C}$ .

Assim, a hidrogenação do óleo de rícino utilizando um fluxo de  $40\text{ mL min}^{-1}$  de  $\text{H}_2(\text{g})$ , à  $25^\circ\text{C}$  e 2% de Pd/C, foi completada com 3 horas de reação, sendo possível manter, aproximadamente, 60% das hidroxilas iniciais. Por outro lado, com 1% de Pd/C e nas mesmas condições, houve em torno de 74% de

hidrogenação, permanecendo 75% das hidroxilas iniciais.



**Figura 75:** Percentual de OH remanescente nas reações de hidrogenação realizadas com 1 e 2% de Pd/C, à  $40 \text{ mL min}^{-1}$  de  $\text{H}_2(\text{g})$  e  $25^\circ\text{C}$ .

Os experimentos com  $\text{H}_2(\text{g})$ , visando à hidrogenação do óleo de rícino, demonstraram a versatilidade do sistema  $\text{H}_2(\text{g})/\text{óleo}/\text{Pd}/\text{C}$  e induzem a propor novos estudos em temperatura ambiente, buscando maior seletividade para formar hidroxiestearatos.

### 3.4.3 CONVERSÃO E SELETIVIDADE NA HIDROGENAÇÃO DO ÓLEO DE RÍCINO

Empregando solvente doador de hidrogênio, com 1 hora de reação, a conversão do ácido ricinoléico foi total e com maior seletividade para a formação do ácido cetoesteárico, conforme Tabela XXXV.

Na hidrogenação realizada com  $\text{H}_2(\text{g})$ , observa-se que com 3 horas a conversão foi de 100%, no entanto, a seletividade foi maior para a formação do ácido hidroxiesteárico.

Com 1 hora de reação no sistema CTH, observou-se que a conversão do

ácido ricinoléico também alcançou 100% e a seletividade foi maior para a produção de ácido cetosteárico.

**TABELA XXXV** - Conversão e seletividade na hidrogenação do óleo de rícino, com relação à concentração de ácido ricinoléico.

Fonte de Hidrogênio	Pd/C (% molar)	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Conversão (%)	Seletividade (%)			
					Ácido cetosteárico	Ácido hidroxisteárico	Ácido esteárico*	Ácido oléico**
H <sub>2</sub> (g)	2,0	3	25	100	19	63	3	-
	1,0	3	25	74	15	68	9	-
Limoneno	2,0	1	170	100	46	13	23	15
	1,0	1	170	92	47	12	2	36
	2,0	1	178	100	47	13	16	21
	1,0	1	178	100	53	11	14	24
	0,5	1	178	56	47	3	-	30
	4,0	1				85	11	-
Cicloexeno	3,0	1	80	100	81	12	-	-
	2,0	1			77	13	-	-
	1,0	1			77	13	-	-

*Antes de calcular seletividade: \* descontou-se 1% referente a concentração inicial de C18:0, \*\* descontou-se 9% referente a concentração inicial de C18:1, C18:2, C18:3.*

Com relação aos solventes doadores utilizados, supõe-se que seja uma vantagem, até o momento, a utilização do cicloexeno já que forma prioritariamente o ácido cetosteárico.

Todavia, a formação de ácido cetosteárico a partir da CTH do óleo de rícino, empregando limoneno como doador de hidrogênio, continua sendo bastante atrativa, visto que este doador apresenta menor toxicidade que o cicloexeno, e os

produtos de desproporcionamento do limoneno também poderão ser separados.

#### **3.4.4 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A CTH DO ÓLEO DE RÍCINO**

Na Hidrogenação do óleo de rícino foi possível constatar que:

- é possível reduzir as insaturações do óleo de rícino, mostrando que esta é uma técnica viável para a transformação de óleos;
- a utilização de limoneno como solvente doador de hidrogênio na CTH, levou à produção de cetoestearatos (~50%) em maior quantidade que hidroxiestearatos, mostrando ser possível reduzir as insaturações do óleo de rícino utilizando um óleo essencial, ambas matérias-primas de fonte renovável;
- a utilização de cicloexeno como solvente doador de hidrogênio na CTH, levou à produção de cetoestearatos, com maior seletividade (~80%);
- os métodos de hidrogenação foram realizados com baixa produção de resíduos e, em estudos futuros, caberá avaliar a possibilidade de aproveitamento dos produtos de desproporcionamento, obtidos na CTH, visando à aplicação do método otimizado;
- a hidrogenação do óleo de rícino empregando  $H_2(g)$  como fonte de hidrogênio foi viável em temperatura e pressão ambientes, tendo maior seletividade para a produção de hidroxiestearatos (~68%). No entanto, ainda há a possibilidade de realizar novos estudos que busquem converter um maior percentual de ácido ricinoléico em ácido hidroxiesteárico, apesar de a conversão de duplas já ser total, nas condições otimizadas;

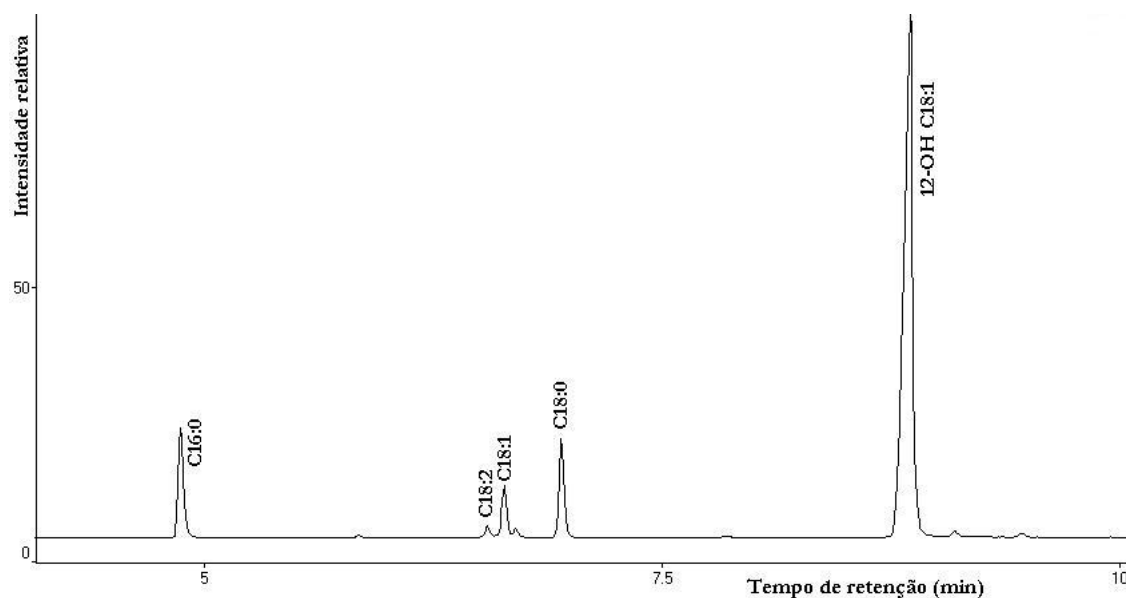
- entre os métodos instrumentais de análise, a GC-MSD foi a mais importante.

### 3.5 ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

A alcoólise enzimática do óleo de mamona foi realizada conforme o planejamento experimental apresentado na Tabela XIX do *item 2.7*, página 105.

#### 3.5.1 CARACTERIZAÇÃO DOS PRODUTOS DE ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

Inicialmente, otimizou-se a análise por GC-MSD dos ésteres etílicos extraídos das amostras de óleo submetido à etanólise enzimática, obtendo-se cromatogramas como o da Figura 76.

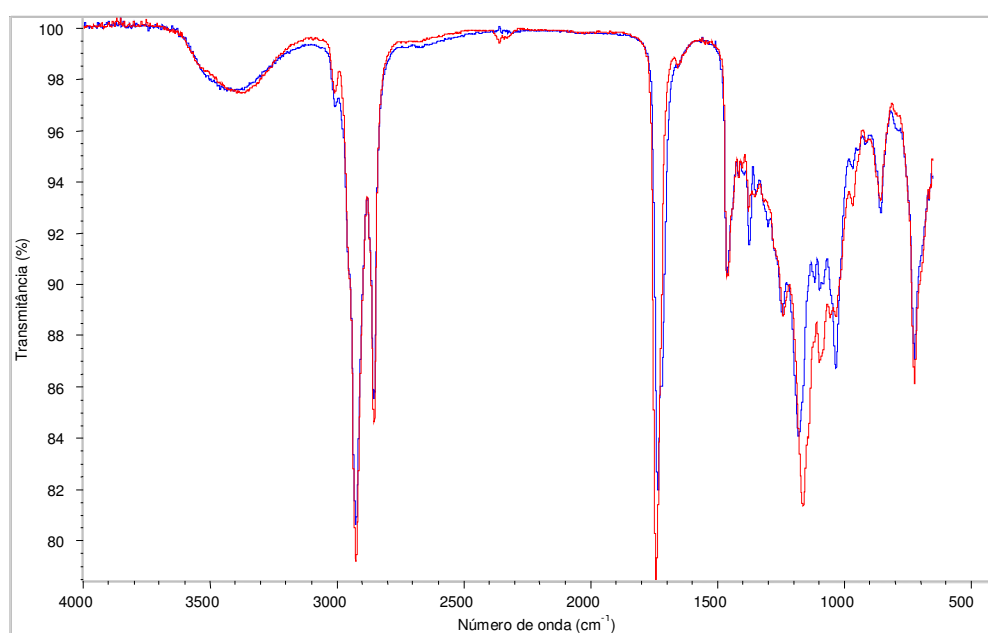


**Figura 76:** Cromatograma do íon seletivo (SIM) dos ésteres etílicos obtidos na etanólise enzimática do óleo de rícino.

Por este estudo, identificou-se que os produtos obtidos eram os esperados para a reação de etanólise enzimática, onde os principais ésteres foram: ricinoleato, palmitato, estearato, linolenato, linoleato e oleato de etila.

Os produtos foram analisados por HATR-FTIR e por HPLC, sem prévia purificação. Portanto, as amostras eram constituídas de glicerol, ésteres etílicos e o restante do óleo de partida.

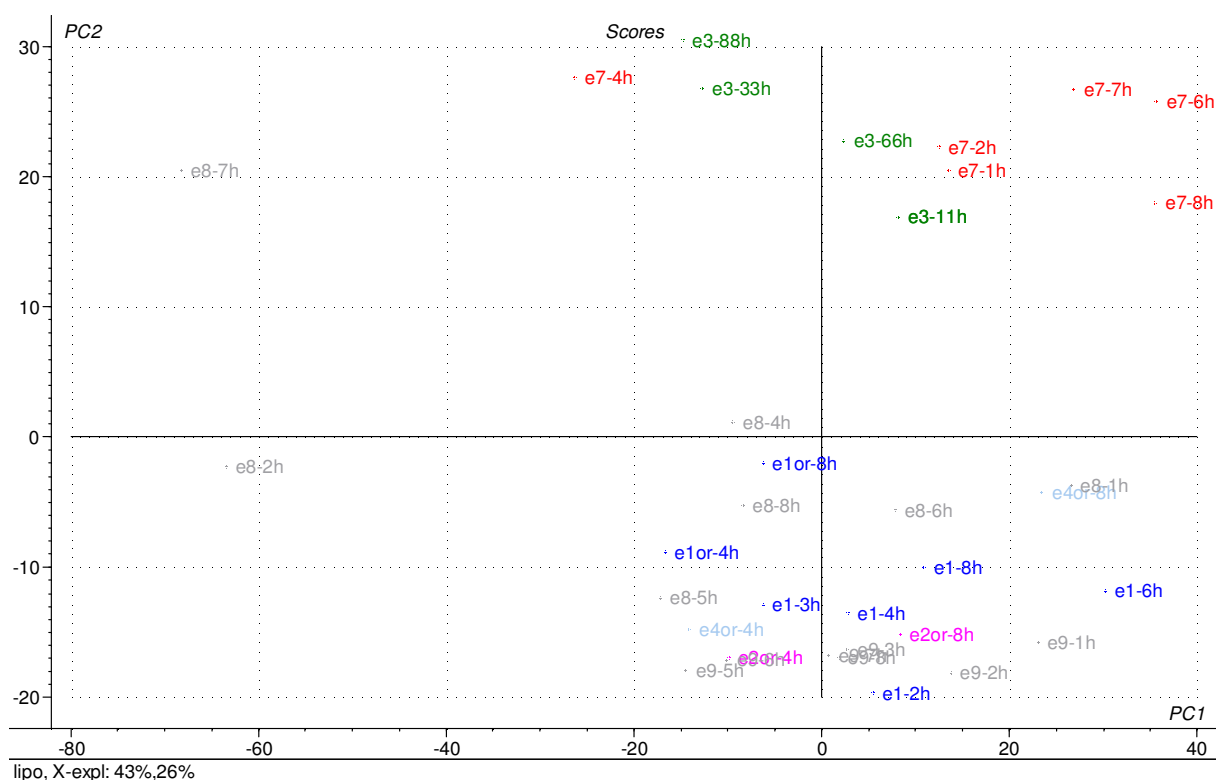
Os espectros no infravermelho permitiram reconhecer os principais grupamentos químicos presentes nas amostras, da mesma forma que foi realizado para a caracterização do óleo puro. Comparando o espectro no infravermelho do óleo com os dos produtos obtidos na etanólise enzimática (Figura 77), observa-se que os espectros apresentam pequenas diferenças na região de 1000 a 1400  $\text{cm}^{-1}$ .



**Figura 77:** Espectro no infravermelho de uma amostra de produto da etanólise enzimática (vermelho) comparado ao do óleo de rícino comercial (azul).

Para reconhecer melhor a diferença existente entre os produtos obtidos nos estudos, fez-se uma análise exploratória, empregando uma matriz de dados de 45 amostras, e como variáveis as absorvâncias obtidas de 4000 a 650  $\text{cm}^{-1}$ .

Com este tratamento dos dados foi possível discriminar as amostras conforme Figura 78.



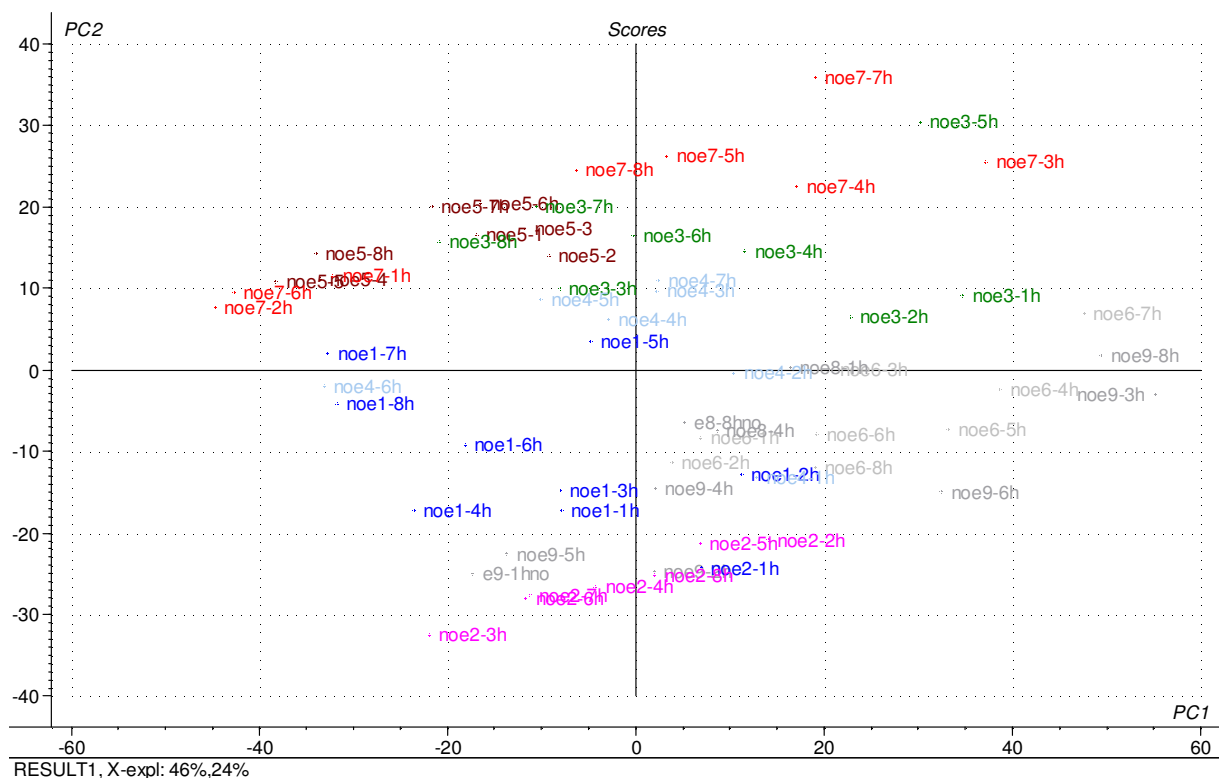
**Figura 78:** Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanólise enzimática do óleo de rícino, empregando a enzima *Lipozyme IM*, com relação aos estudos E1 a E9.

Nesta análise, observam-se semelhanças entre os produtos obtidos nos estudos E3 e E7, discriminando os estudos realizados com maior concentração de enzima e sem adição de água, em relação aos estudos E1, E2, E8 e E9 que empregaram baixa concentração de enzima e/ou presença de água.

O estudo exploratório também foi realizado com os espectros no infravermelho dos produtos obtidos da etanólise enzimática, empregando a enzima *Novozym 435* (Figura 79). O tratamento quimiométrico dos dados foi realizado a partir de uma matriz de espectros no infravermelho de 69 amostras.

Constatou-se que, com a segunda enzima testada, utilizando o mesmo planejamento de reações, a PC2 apresenta uma discriminação de dois grupos: o

primeiro, E3, E7, E5 e E4 e o segundo, E1, E2, E6, E8 e E9.



**Figura 79:** Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanolise enzimática do óleo de rícino empregando a enzima *Novozym 435*, com relação aos estudos E1 a E9.

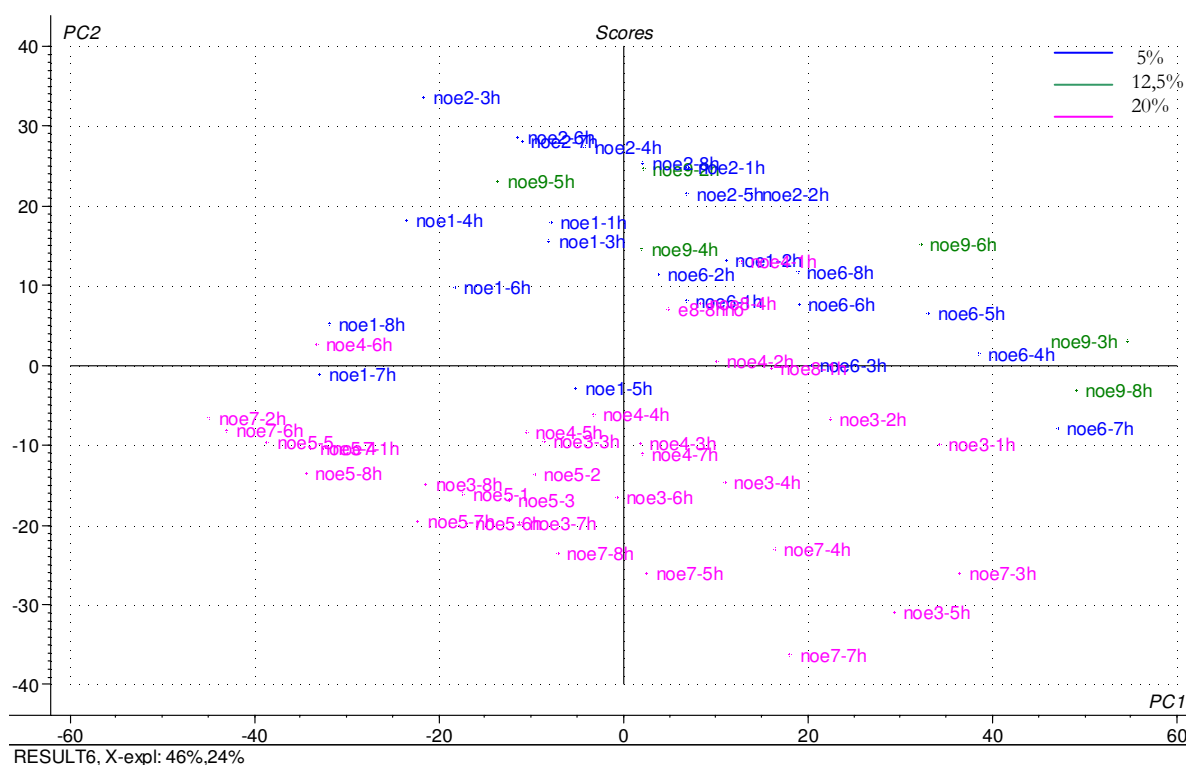
No primeiro conjunto foram agrupados E3, E7 e E5, em cujas reações não foi adicionada água, e E4, a qual foi promovida com adição de água, porém utilizando uma concentração maior de enzima.

Como no planejamento experimental, com a temperatura foi controlada a 35, 50 e 65<sup>o</sup>C, modelaram-se os espectros no infravermelho, classificando as amostras em relação à temperatura. Neste tratamento, não foi observada uma discriminação em relação às classes modeladas.

Por outro lado, quando a análise exploratória foi realizada classificando as amostras com relação à quantidade de enzima empregada na reação, confirmaram-se os resultados encontrados nas Figuras 78 e 79, ou seja, a concentração de enzima adicionada no meio reacional foi determinante na discriminação das amostras



(Figura 80).

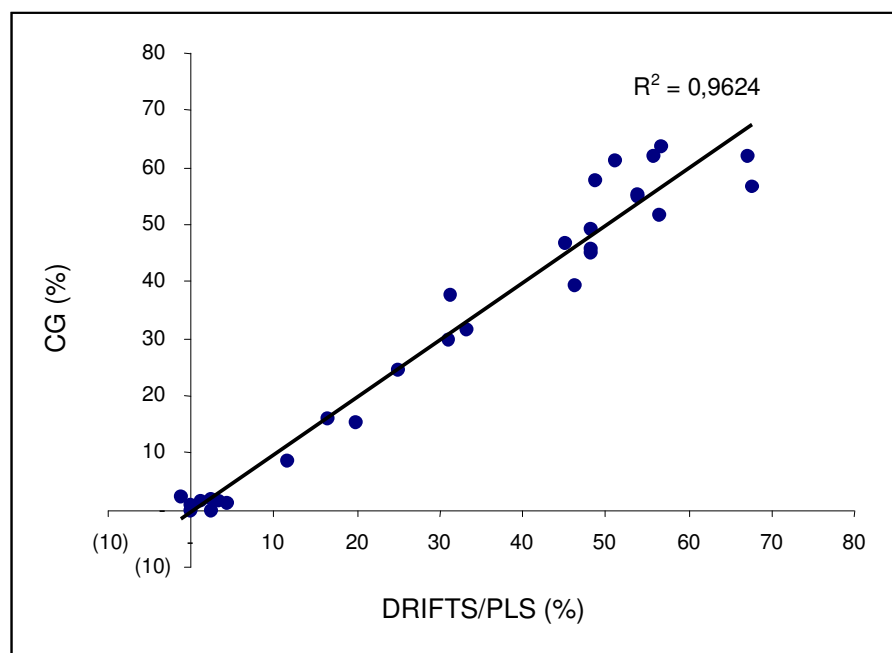


**Figura 80:** Gráfico bivariado PC1xPC2: Análise exploratória dos espectros no infravermelho das amostras obtidas na etanólise enzimática do óleo de rícino empregando a enzima *Novozym 435*, com relação à concentração de enzima.

Por meio de espectroscopia no infravermelho, também foi possível validar o método cromatográfico empregado para a quantificação de ricinoleato de etila no produto.

Neste caso, os espectros no infravermelho de cada amostra foram correlacionados com a concentração de ricinoleato de etila determinada por cromatografia gasosa.

Utilizou-se o método de regressão por mínimos quadrados parciais (PLS), sendo a concentração do ricinoleato de etila a variável dependente, (Figura 81). Este estudo empregou 6 componentes principais e acumulou 90,8% de informação.



**Figura 81:** Representação gráfica da correlação da concentração de ricinoleato de etila com os espectros no infravermelho empregando regressão por PLS.

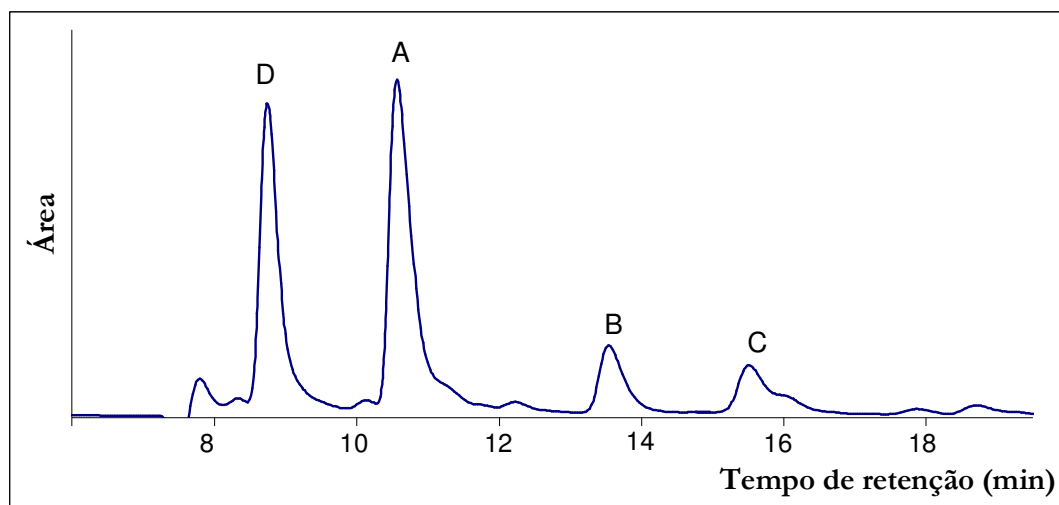
No gráfico, observa-se uma boa correlação ( $R^2=0,9624$ ), o que indica que os valores encontrados para a análise cromatográfica conferem com a composição química das misturas oriundas das reações. Isto é, ambas as técnicas apresentam semelhante informação química.

Desta forma, conclui-se que, através do estudo quimiométrico dos dados de GC e de IR, foi possível confirmar a eficiência dos resultados quantitativos obtidos por GC.

Portanto, a análise exploratória contribuiu para elucidar que a principal variável utilizada no planejamento foi a concentração do biocatalisador e para ratificar as informações obtidas via cromatografia gasosa.

Nas análises por HPLC dos produtos da etanólise, os cromatogramas apresentaram picos característicos do óleo de rícino puro (A, B e C), apresentados na Figura 46 do *item 3.2.5* e que o principal produto da etanólise foi o ricinoleato de

etila (D), identificado por comparação com padrão (Figura 82).



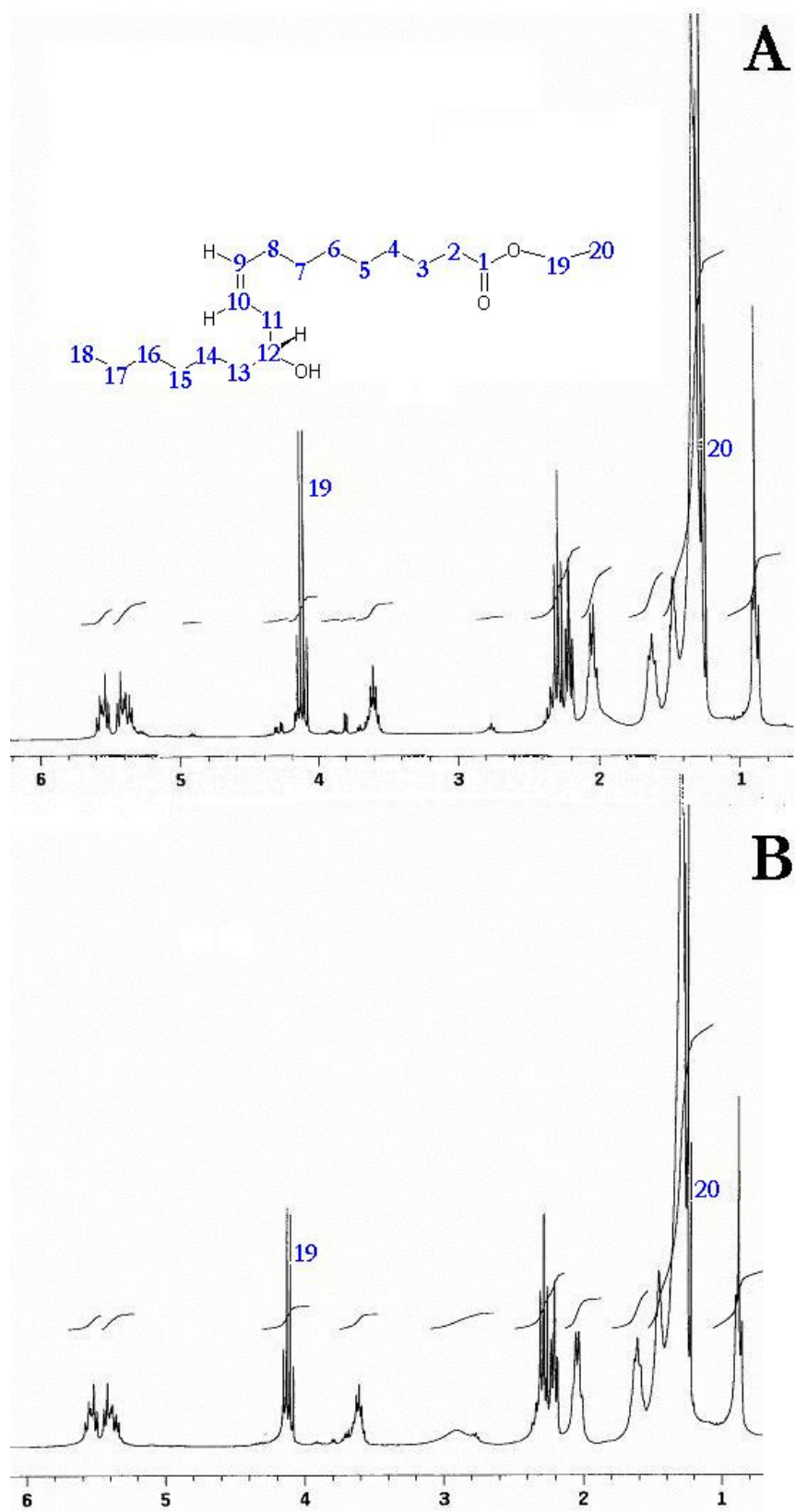
**Figura 82:** Cromatograma de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência do produto da reação de etanolise E4-3h realizada com a enzima *Lipozyme IM*.

Por ressonância magnética nuclear de  $^1\text{H}$  e de  $^{13}\text{C}$ , as análises foram realizadas com amostras do estudo E3 realizado com a enzima *Lipozyme IM*. Comparando-se os espectros, observa-se que, dependendo do tempo de reação, existe o triglicerídeo de partida junto ao produto (espectro A) ou só os produtos da reação (espectro B), como foi representado na Figura 83.

Nos espectros, observa-se um quadrupeto em 4,0-4,2 ppm, além dos sinais já identificados para a triricinoleína (Figura 48 do item 3.2.6). Este sinal corresponde a hidrogênios metilênicos (19) da etila ligada ao grupamento éster.

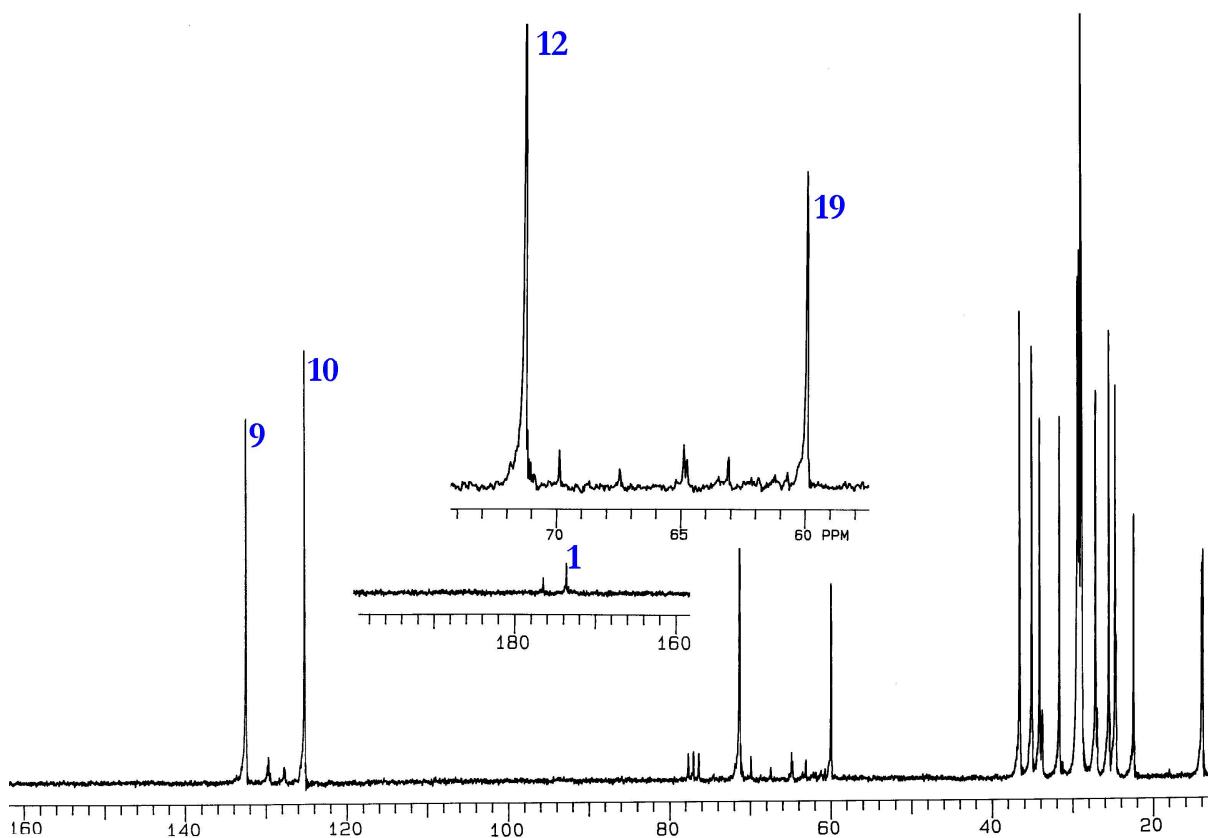
Pela análise dos espectros verifica-se que a conversão da triricinoleína em ricinoleato de etila praticamente havia se completado em 4h.

No espectro B, também aparece um sinal largo em, aproximadamente 3 ppm referente a hidrogênios do glicerol, que corresponde a aproximadamente 10% no produto.



**Figura 83:** Espectro de  $^1\text{H}$  NMR dos produtos das reações E3 -1h (A) e E3-4h(B) realizada com a enzima *Lipozyme IM*.

Por  $^{13}\text{C}$  NMR, observou-se sinais da maioria dos carbonos presentes no óleo de partida, e alguns sinais novos que foram identificados, como mostra a Figura 84.



**Figura 84:** Espectro de  $^{13}\text{C}$  NMR dos produtos da reação E3 -4h.

Cabe salientar que o sinal referente aos carbonos GII e GI (66 e 62 ppm) da Figura 49 do *item 3.2.6* não foram observados, confirmando que não havia mais triacilglicerol na amostra.

No entanto, entre 176-178 ppm, observa-se um sinal pouco intenso que pode ser referente à carbonila de acilgliceróis residuais.

Com relação ao éster formado, observou-se a presença do  $\text{CH}_2$  do grupo etila (19) ligado ao grupamento éster em 60ppm e de carbono de carbonila (1) em 174 ppm.

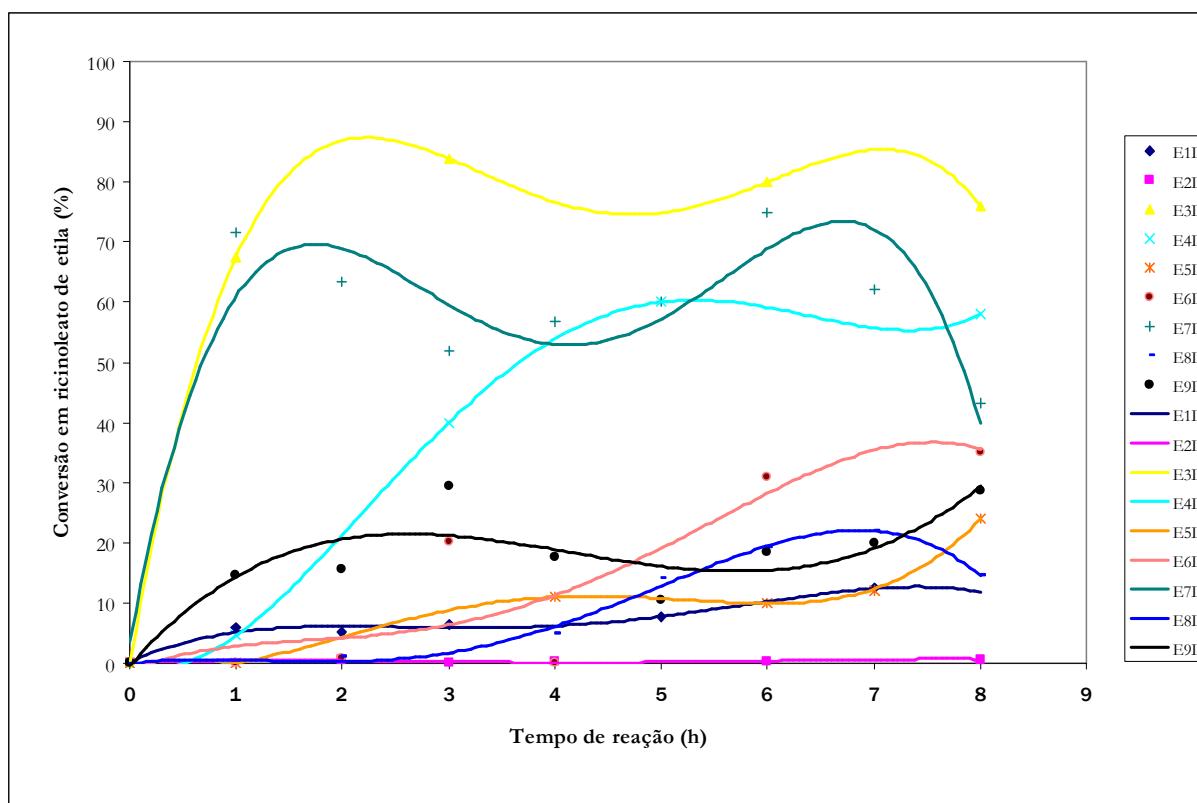
### 3.5.2 RENDIMENTO DA ETANÓLISE ENZIMÁTICA

Empregando GC-FID como método de quantificação por padrão externo, realizou-se a determinação da concentração do ricinoleato de etila produzido durante a etanolise enzimática do óleo de rícino com a enzima *Lipozyme IM* e *Novozym 435*, obtendo-se os resultados das Tabelas XXXVI e XXXVII.

**TABELA XXXVI** - Rendimento da etanolise enzimática do óleo de rícino realizada com a enzima *Lipozyme IM*.

TEMPO (h)	CONVERSÃO EM RICINOLEATO DE ETILA (%)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ESTUDOS								
E1L	5,8	5,1	6,5	-	7,6	-	12,4	-
E2L	-	0,5	-	0,3	-	0,3	-	0,6
E3L	67,6	-	83,9	-	-	80,0	-	76,0
E4L	4,5	-	40,0	-	60,0	-	-	58,0
E5L	-	-	-	10,9	-	10,1	12,1	24,0
E6L	-	-	20,2	-	-	31,0	-	35,1
E7L	71,6	63,5	51,8	56,9	60,0	74,9	62,2	43,2
E8L	-	1,0	1,6	4,9	14,1	19,1	21,9	14,6
E9L	14,5	15,5	29,4	17,6	10,5	18,3	19,9	28,7

Observou-se que existem condições de reação que eram mais propícias à produção de ricinoleato de etila a partir do óleo de rícino, como as condições dos estudos E3 e E7 com a enzima *Lipozyme IM*, com as quais foi possível obter de 70 a 80% de conversão da triricinoleína, como mostra a Figura 85.



**Figura 85:** Variação do rendimento das reações de etanolise enzimática com a enzima *Lipozyme IM* em função do tempo.

Observou-se na Tabela XXXVII e Figura 86, que com a enzima *Novozym 435*, nos estudos E3, E4, E5 e E7, houve os maiores valores de conversão, sendo possível converter totalmente a triricinoleína em ricinoleato de etila.

Com as duas enzimas, os resultados com o estudo E2 foram semelhantes, mostrando que, nestas condições, a conversão da triricinoleína tende a zero. Supõe-se que este resultado tenha ocorrido devido à baixa concentração de enzima e à alta concentração de água no meio.

Todavia, avaliando o tempo de reação em que foi possível obter um melhor resultado, verificou-se que não são necessárias oito horas de reação para que a maior conversão seja possível. Existiram condições experimentais em que altas conversões foram possíveis com 1 hora de reação.

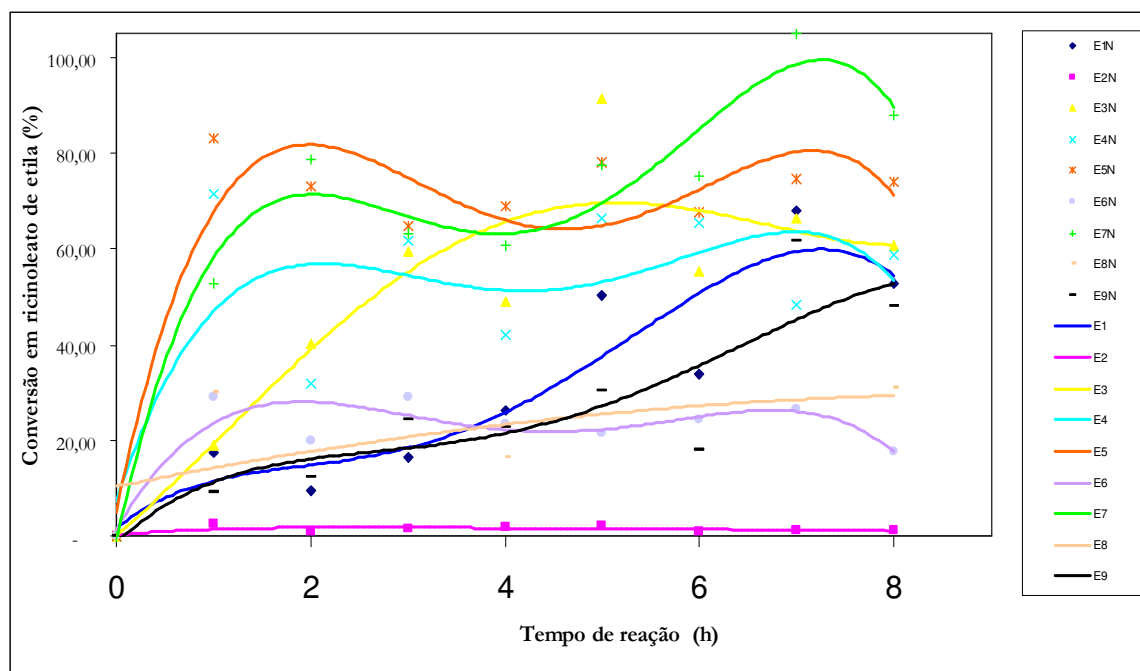
**TABELA XXXVII -** Rendimento da etanólise enzimática do óleo de rícino realizada com a enzima *Novozym 435*.

TEMPO (h)	CONVERSÃO EM RICINOLEATO DE ETILA (%)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
ESTUDOS								
E1N	17,5	9,3	16,6	26,3	50,2	33,9	68,1	52,8
E2N	2,4	1,0	1,6	1,9	2,1	1,0	1,3	1,2
E3N	19,0	40,2	59,3	48,9	91,4	55,4	66,5	60,8
E4N	71,5	32,1	61,7	42,1	66,3	65,6	48,4	58,8
E5N	83,1	73,1	64,8	68,9	78,2	67,6	74,6	74,2
E6N	29,2	19,9	29,1	23,4	21,4	24,3	26,6	17,6
E7N	52,9	78,7	63,2	60,8	77,4	75,3	104,9	88,0
E8N	30,1	-	-	16,4	-	-	-	30,9
E9N	9,3	12,4	24,5	22,9	30,2	17,9	61,5	48,2

Cabe salientar que a conversão da triricinoleína, utilizando as duas enzimas, não apresentou, com relação ao tempo de reação, um comportamento linear, o que levou à realização de experimentos visando avaliar a repetibilidade.

A fim de avaliar a repetibilidade da etanólise enzimática realizada com as enzimas *Novozym 435* e *Lipozyme IM*, foram repetidos em triplicata os estudos E9N e E9L, obtendo-se os dados da Tabela XXXVIII. Nesta Tabela, verificou-se que, em alguns tempos de reação, as diferenças foram mais acentuadas, principalmente para 6 e 8 horas de reação com a enzima *Lipozyme IM*.





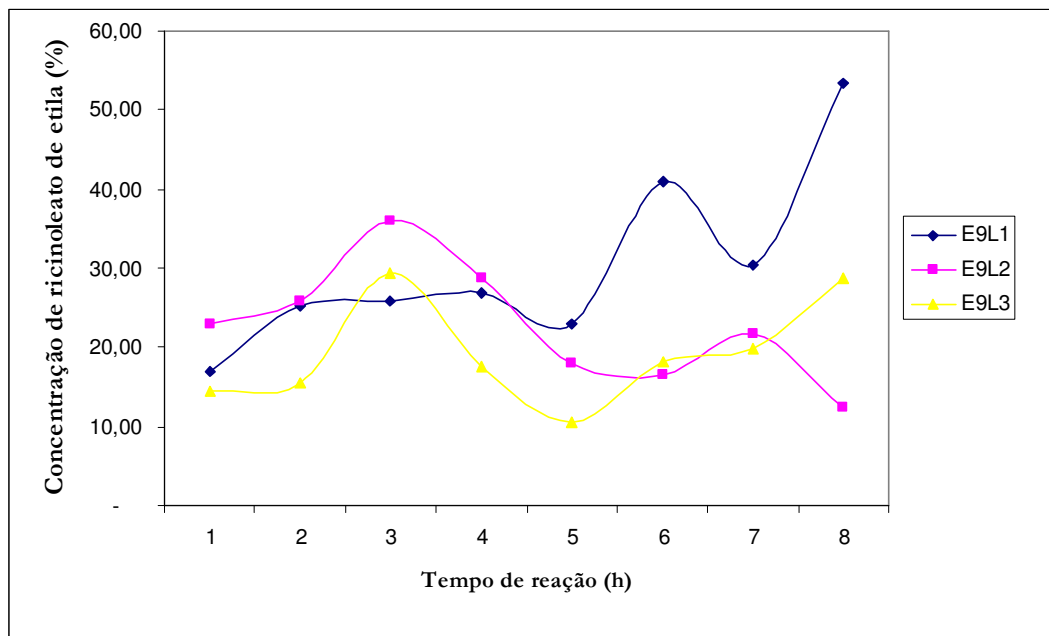
**Figura 86:** Variação do rendimento das reações de etanolise enzimática com enzima *Novozym 435* em função do tempo.

**TABELA XXXVIII -** Rendimento das reações do estudo E9 realizadas em triplicata com as enzimas *Lipozyme IM* e *Novozym 435*.

ESTUDOS	TEMPO (h)	CONVERSÃO EM RICINOLEATO DE ETILA (%)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
E9L-1		16,9	25,2	25,8	26,9	23,0	40,9*	30,5	53,4*
E9L-2		23,0	25,8	35,9	28,8	18,0	16,5	21,8	12,5
E9L-3		14,5	15,5	29,4	17,5	10,5	18,3	19,9	28,7
Média		18,1	22,2	30,4	24,4	17,2	17,4	24,1	20,6
<i>Desvio Padrão</i>		4,4	5,8	5,1	6,0	6,3	-	5,6	-
E9N-1		14,3	9,9	18,6	11,0	13,1	15,0	31,2	26,1
E9N-2		4,6	17,9	14,0	7,5	19,7	14,3	23,0	29,9
E9N-3		8,8	8,2	5,7	3,3	7,2	4,7*	18,7	20,5
Média		9,3	12,0	12,8	7,3	13,3	14,7	24,3	25,5
<i>Desvio Padrão</i>		4,9	5,1	6,5	3,9	6,3	-	6,4	4,8

\*Valores estatisticamente rejeitados para o cálculo da média.

Nos gráficos das Figuras 87 e 88, foi possível visualizar esta variação. Observou-se também que, com a enzima *Lipozyme IM*, até 5 horas de reação, os valores de conversão têm menor variação.

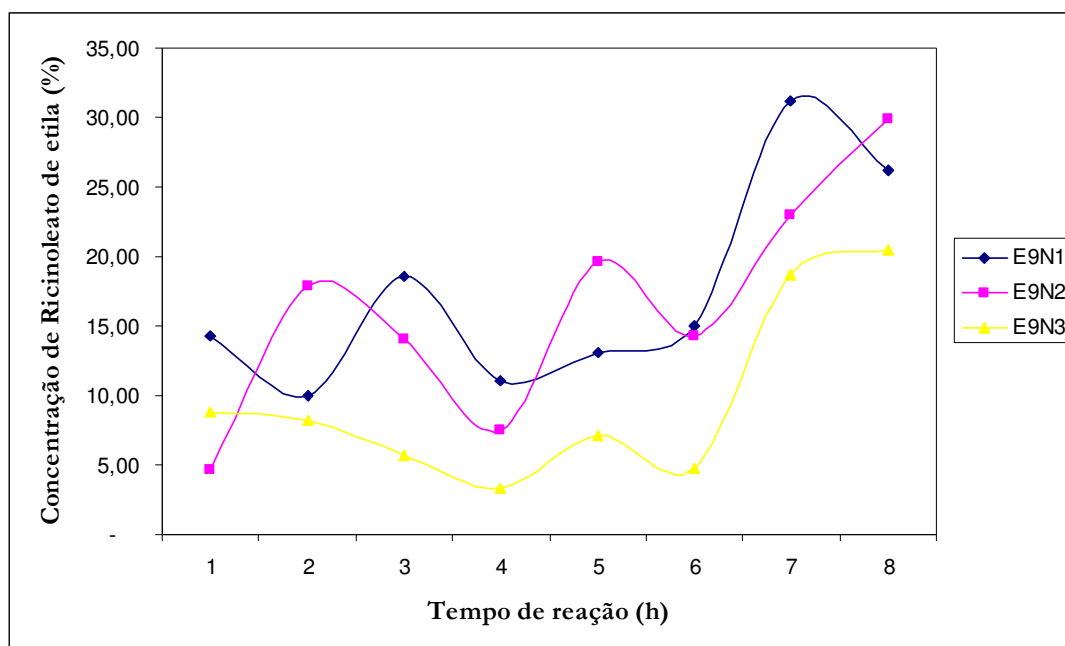


**Figura 87:** Variação do rendimento das reações do estudo E9L realizado em triplicata.

A repetibilidade das reações revelou a suscetibilidade do biocatalisador a pequenas mudanças no meio. As reações foram afetadas por alguns fatores, sobre os quais foi possível apenas propor que possam estar relacionados à desnaturação da enzima e reversibilidade da reação.

Como as enzimas são termolábeis, e ao mesmo tempo em que ocorre a reação de etanolise pode estar ocorrendo a desnaturação térmica da enzima. Por isso, em algumas reações, pode haver redução da quantidade de ricinoleato de etila produzido com relação à reação com um tempo inferior.

A diferença entre as conversões realizadas em triplicata ficaram em uma faixa de 3 a 6%, o que parece razoável, já que se trata de um óleo que apresenta 89% em triricinoleína.



**Figura 88:** Variação do rendimento das reações do estudo E9N realizado em triplicata.

Como decorrência destes estudos, constata-se que é promissora a produção de biodiesel a partir da etanolise enzimática do óleo de rícino, tendo-se como um primeiro indicativo que a  $65^{\circ}\text{C}$ , 20% de enzima *Novozym 435*, em proporções estequiométricas entre os substratos e sem adição de água, a conversão é total.

Destaca-se que, com a biocatálise reduz-se os produtos secundários obtidos quando é empregada a catálise básica. Além disso, o emprego de enzimas como biocatalisadoras na produção de biodiesel, está totalmente em acordo com os princípios da química verde, que sugerem a redução de resíduos, o emprego de processos seguros e a utilização de fontes renováveis.

Neste sentido os biocatalisadores conferem uma melhoria de processo e um sistema ecologicamente mais correto que o realizado tradicionalmente com o emprego de NaOH como catalisador, apesar da rapidez e das altas taxas de conversão obtidas industrialmente.

### 3.5.3 CONSIDERAÇÕES FINAIS SOBRE A ETANÓLISE DO ÓLEO DE RÍCINO

Foi possível constatar que:

- as reações de etanólise, nas condições estudadas, podem levar à alta conversão da triricinoleína em ricinoleato de etila;
- pelos métodos instrumentais utilizados, foi possível caracterizar o produto das reações de etanólise enzimática;
- destaca-se o emprego da espectroscopia de infravermelho, a qual permitiu classificar os estudos realizados com as duas enzimas e validar o método de quantificação dos ésteres por GC/FID;
- a enzima *Novozym 435* demonstrou ser mais adequada para a etanólise do óleo de rícino;
- a etanólise enzimática é um método rápido e produz poucos resíduos, sendo que estes podem ser reutilizados em outros processos;
- há a necessidade de, em trabalhos futuros, produzir uma quantidade maior de produtos para que sejam feitas outras análises, direcionadas ao uso deste produto como biodiesel;
- há a necessidade de controlar a reprodutibilidade da reação de etanólise enzimática nas condições empregadas neste trabalho.

## ***CONCLUSÃO***



Após a discussão dos resultados, foi possível concluir sobre vários aspectos relacionados à ricinoquímica.

Primeiramente, os óleos obtidos na extração por prensagem e por solvente, em todos os aspectos analisados, apresentaram-se similares ao óleo comercializado. Assim, comprovando que na região do Vale do Rio Pardo/RS de onde eram provenientes as sementes, existem boas perspectivas para a cultura da mamona.

Importante destacar, que, embora o percentual de óleo extraído possa ser maior, neste trabalho existem indicativos que demonstram as potencialidades da cultura e da instalação de indústrias beneficiadoras do grão para produção de óleo e subprodutos.

Quanto ao outro método de extração utilizado, que foi a extração com CO<sub>2</sub> a alta pressão, concluiu-se que este não seria viável para extração de óleos, mas sim para avaliar a presença de outros componentes que normalmente não são extraídos por métodos clássicos.

Com relação aos métodos de transformação do óleo de rícino, ressalta-se a versatilidade da CTH, que permite, em pouco tempo, alta conversão e seletividade na produção de triacilgliceróis de ácido cetosteárico.

Algumas constatações importantes foram realizadas com relação à etanólise enzimática do óleo de rícino, no entanto, cabe destacar que, entre as condições estudadas, foi possível alcançar a conversão total da triricinoleína, produzindo o ricinoleato de etila, que poderá ser utilizado principalmente, como biocombustível.

## ***TRABALHOS FUTUROS***



Entre os objetivos alcançados, o mais importante talvez tenha sido explorar as potencialidades relacionadas à extração e transformação do óleo de rícino, abrindo perspectivas para o desenvolvimento regional e para utilização de novas tecnologias, contribuindo diretamente para o meio ambiente.

Assim, muitos trabalhos poderão ser feitos com base nos resultados obtidos até este momento, como:

- avaliar a presença de alcalóides no fruto e folhas de *Ricinus communis* L.;
- quantificar os componentes minoritários presentes no óleo de rícino;
- realizar a etanólise enzimática com o óleo bruto, reduzindo as etapas de refino antes da produção dos ésteres;
- realizar a hidrogenação com  $H_2(g)$  a temperatura ambiente e a CTH a partir dos ésteres metílicos dos ácidos graxos do óleo de rícino;
- avaliar o desempenho de outros doadores e/ou sistemas catalíticos na CTH do óleo de rícino;
- aplicar a CTH com limoneno como solvente doador de hidrogênio para outros óleos vegetais que não sejam hidroxilados, podendo avaliar a seletividade na redução de glicerídeos poliinsaturados;
- separar e fracionar os produtos de desproporção do limoneno, obtidos após a CTH do óleo de rícino;



- realizar a extração do óleo de rícino empregando extração acelerada por solvente;

- otimizar a SFE, buscando componentes presentes na casca do fruto de *Ricinus communis* ou visando a extração de óleo da semente porém com adição de co-solventes ou o emprego de outros fluidos;

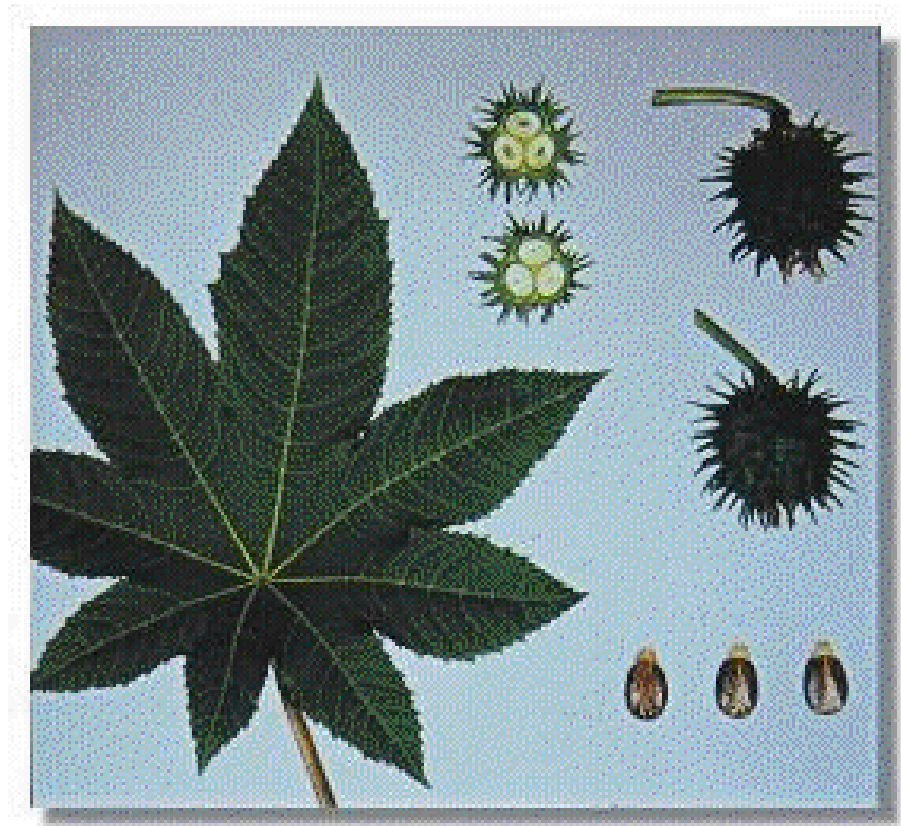
- e entre outros, avaliar as propriedades do óleo de rícino extraído com etanol como solvente, objetivando a substituição do hexano, atualmente utilizado pelas indústrias.

## *ANEXOS*

---

---

***ANEXO A – FRUTO E SEMENTE DA MAMONA***



## ***ANEXO B – LISTAGEM DOS PRINCIPAIS PRODUTOS OBTIDOS DO ÓLEO DE RÍCINO***

### **ALIMENTAÇÃO**

Éster de Óleo de Mamona  
Aditivo Redutor de  
Viscosidade  
Ácidos Graxos Conjugados  
Triglicéride de Cadeia Média  
Papéis  
Antiespumante  
Aditivo Impermeabilizante

### **FARMACÊUTICA**

Glicerina  
Ceras  
Óleo de Mamona  
Ácido Undecilênico  
Zinco Undecilenato  
Anidrido Enântico  
Cálcio Undecilênato  
Óleo de Mamona  
Hidrogenado

### **TINTAS E ADESIVOS**

Polióis  
Glicerina  
Ácido Dimérico  
Poliamidas  
Resinas Alquídicas  
Ácido Ricinoléico  
Agente Tixotrópico  
Óleo de Mamona – Todas  
Gradações  
Aditivo Umidificante e  
Dispersante

Óleo de Mamona Desidratado  
Ácido Graxo DCO  
*Water-thinnable Resins*

### **QUÍMICA TÊXTIL**

Surfactantes  
Agente Umidificante de  
Pigmento  
Auxiliar Para Matéria Prima

### **PLÁSTICOS & BORRACHA**

Agente Agregante  
Apoio de Processos  
Massa de Moldar  
Polióis

### **ELECTRONICOS & TELECOMUNIC.**

Sistema de Poliuretano  
Resina de Poliamida  
Óleo de Mamona  
Éster de Óleo de Mamona  
Polióis  
Ceras para Geléia de Cabos  
Fluido Capacitor

### **LUBRIFICANTES**

Ácido Dimérico  
Ácido Ricinoléico  
Éster de Óleo de Mamona

Óleo de Mamona Soprado  
Ácido Heptanóico  
Sais Metálicos  
Óleo de Mamona  
Hidrogenado  
*Hydroxy amide waxes*  
Ácido hidroxiesteárico  
Metil hidroxiestearato  
Inibidores de Corrosão  
Ácido Sebácico  
*Polyol esters*

### **COSMÉTICOS**

Óleo de Mamona  
Emulsificante  
Éster de Óleo de Mamona  
Ácido Undecilênico  
Desodorante  
Cera de Mamona  
Triglicéride de Cadeia  
Média

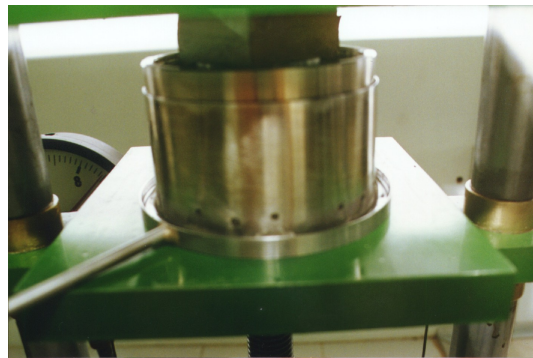
### **PERFUMARIA**

Heptaldeído  
Ácido Heptanóico  
Ácido Undecilênico  
Aldeído Undecilênico  
Álcool Heptílico  
Heptanoato de etila  
Acetato Heptílico

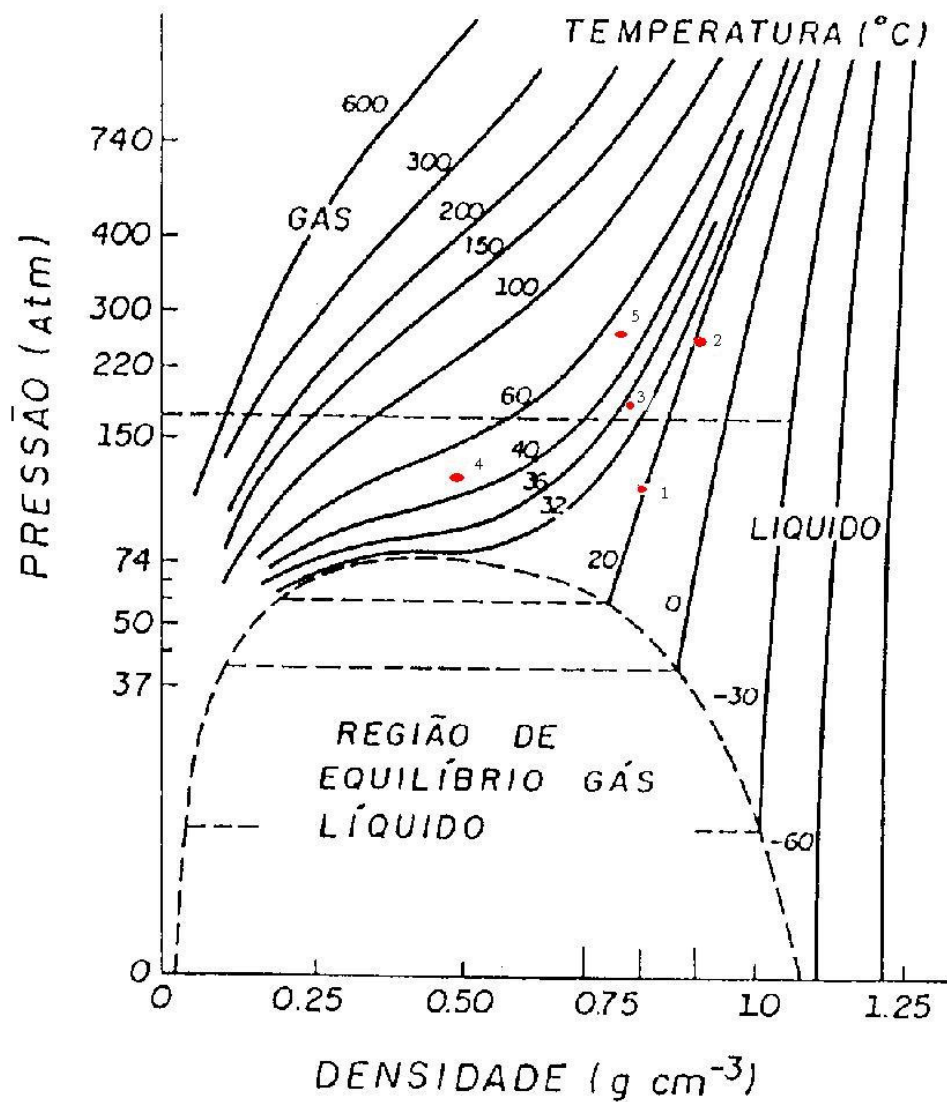
***ANEXO C – FOTOGRAFIAS DO PLANTIO DE  
MAMONA NO VALE DO RIO PARDO***



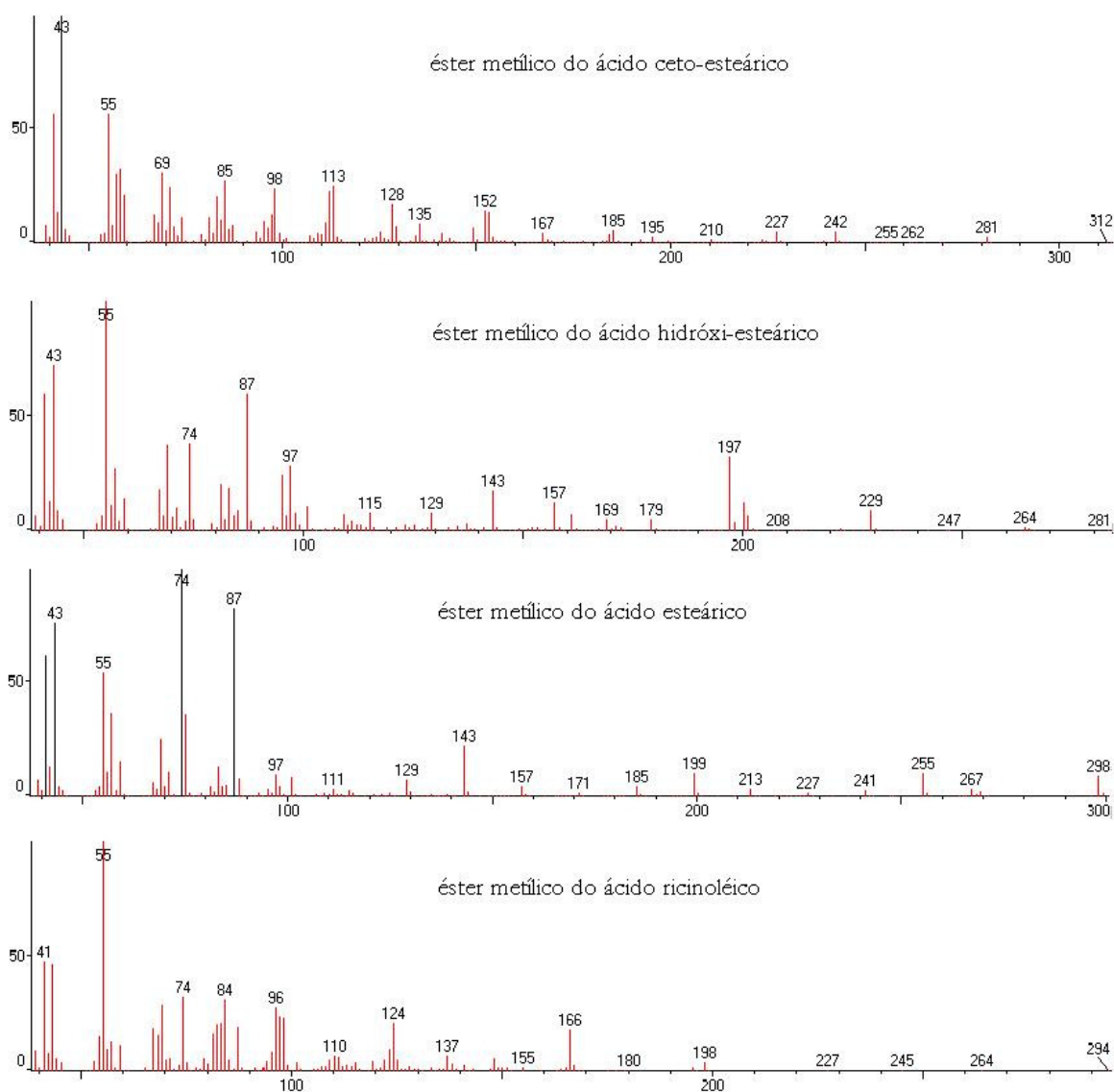
***ANEXO D - FOTOGRAFIAS DA ETAPA DE  
EXTRAÇÃO POR PRENSAGEM***



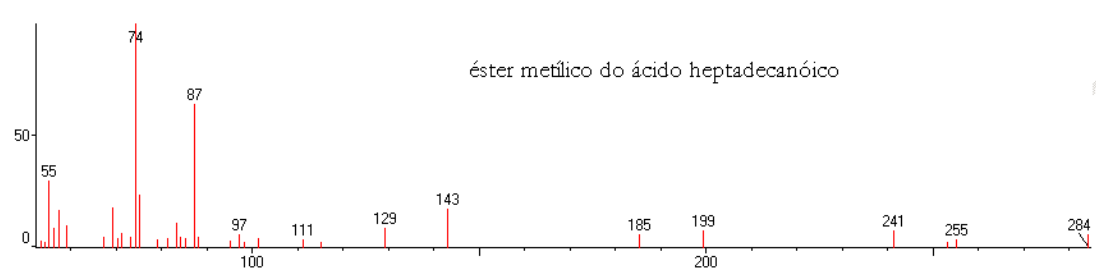
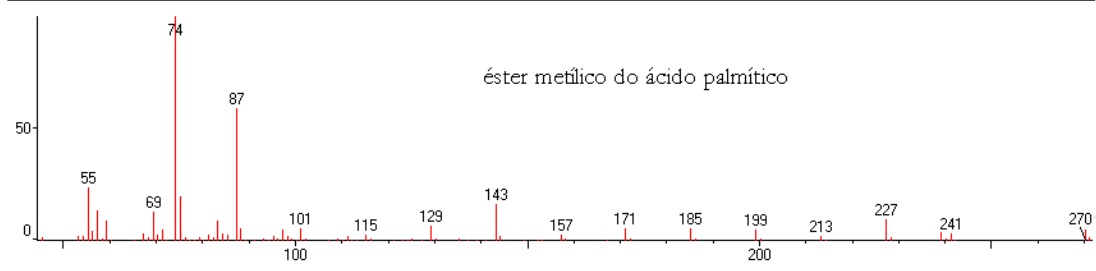
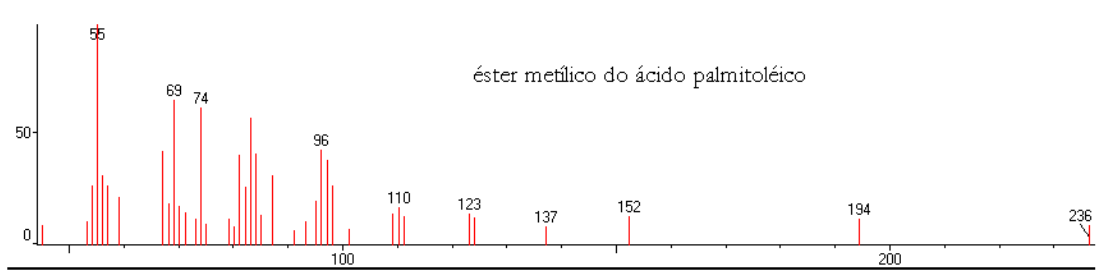
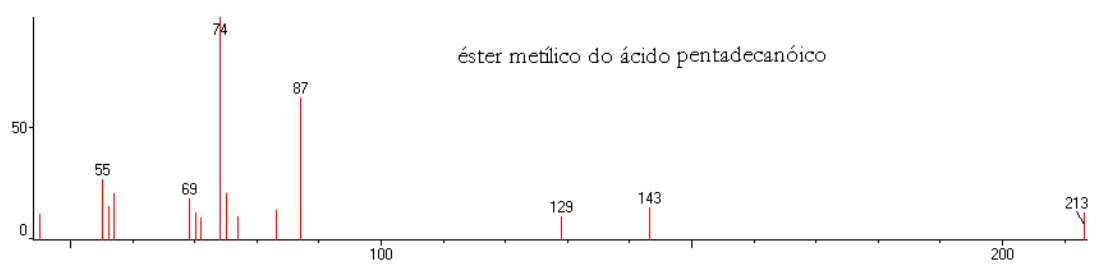
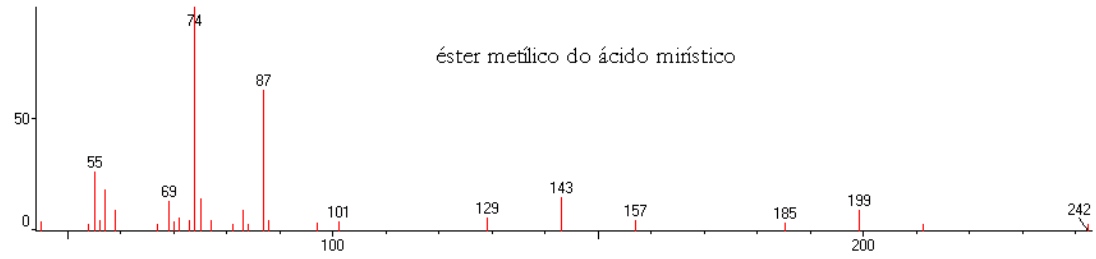
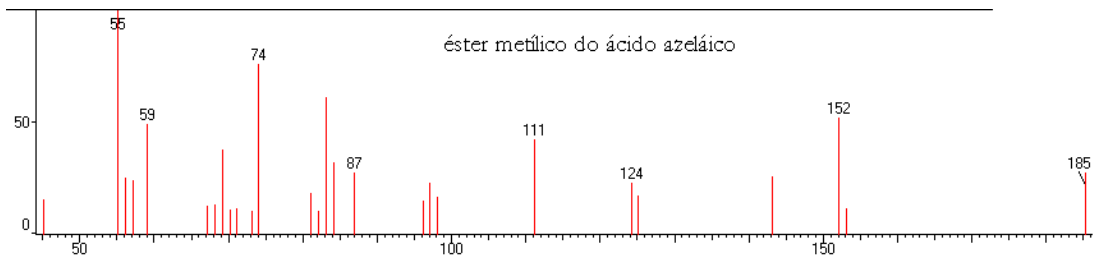
**ANEXO E – DIAGRAMA DE DEPENDÊNCIA DA DENSIDADE DE CO<sub>2</sub> COM P E T.**

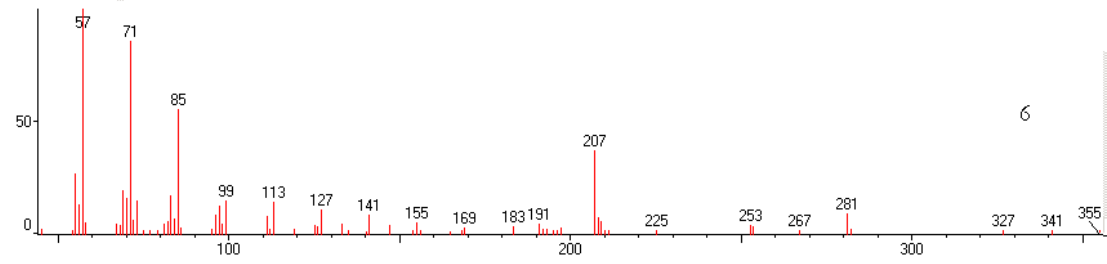
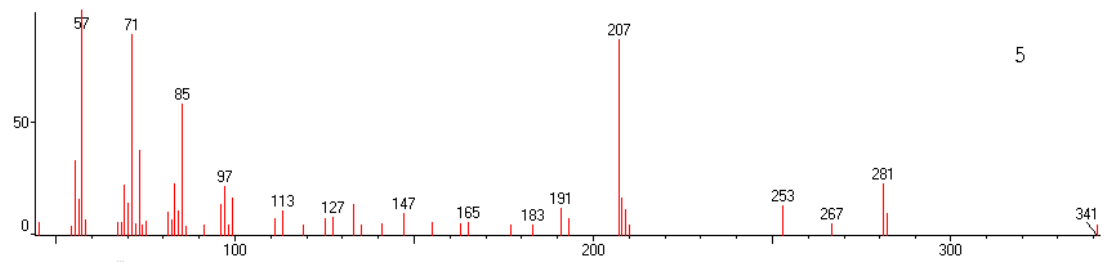
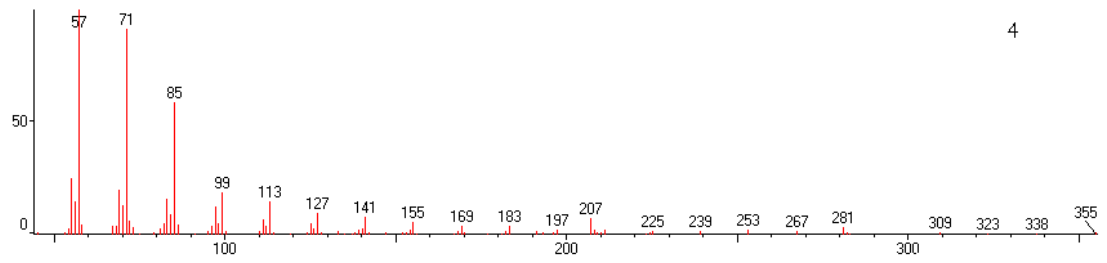
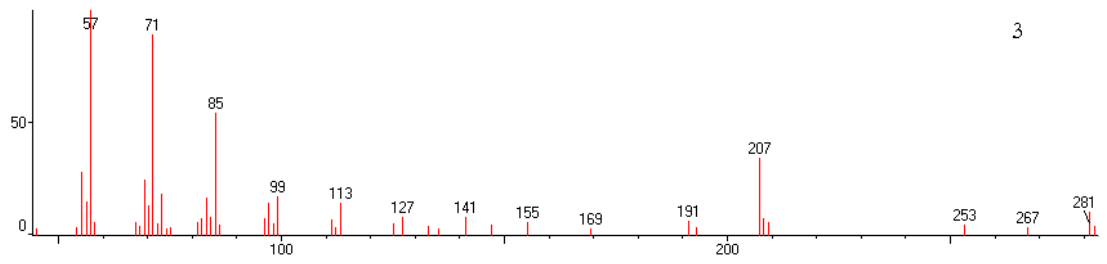
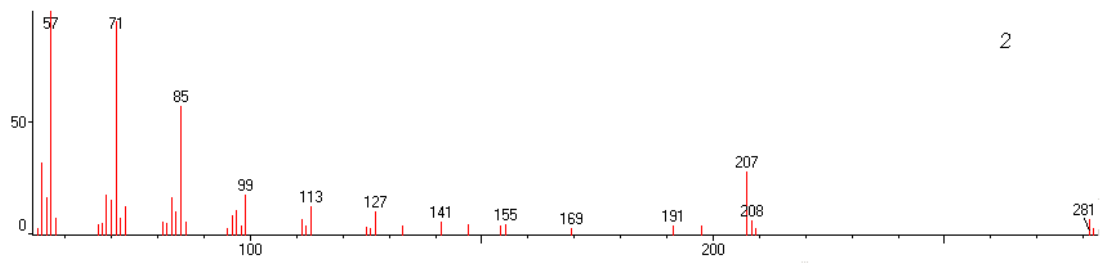
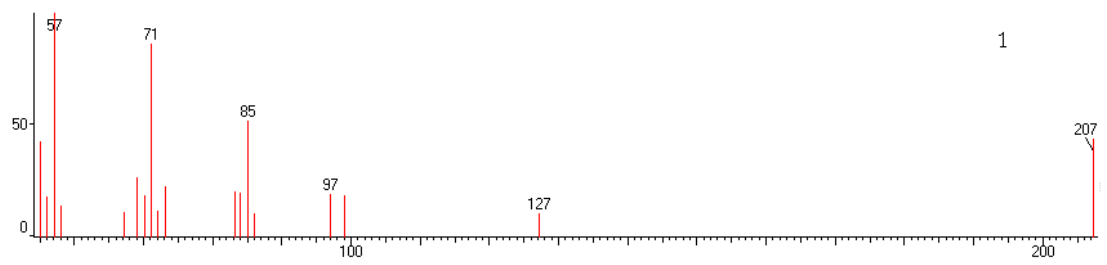


***ANEXO F – ESPECTROS DE MASSAS DOS  
COMPOSTOS EXTRAÍDOS POR CO<sub>2</sub> A ALTA  
PRESSÃO***









## ***REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS***

---

---

- 
- <sup>1</sup> Brigham, R.D.; *Castor: Return of an old crop*, **1993**, 380. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), *New crops*. Wiley, New York, **2001**.
- <sup>2</sup> Biermann, U.; Friedt, W.; Lang, S.; Lühs, W.; Machmüller, G.; Metzger, J. O.; Klaas, M. R. gen; Schäfer, H. J.; Schneider, M. P.; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2000**, 39, 2207.
- <sup>3</sup> Committee on Commodity problems. Intergovernmental group on oilseeds, oils and fats. 28th session. *Biotechnology developments in the oilseeds sector*. Roma, Organização das Nações Unidas para a agricultura e alimentação, **1997**.
- <sup>4</sup> Campost, T.; Canéchio, V.; *Principias culturas II*; 2<sup>a</sup> ed., Instituto Campineiro de Ensino Agrícola: São Paulo, **1973**.
- <sup>5</sup> Harbans, L. B.; Mohamed, I. A.; Webber, C. L.; Novell, G. R.; *Evaluation of Castor Germoplasm for agronomic and oil characteristics; Progress in new crops*, Alexandria, **1996**.
- <sup>6</sup> Bruneton, Jean.; *Elementos de fitoquímica y de Farmacognosia*; Editora Acribia: Zaragoza Espanha, **1991**.
- <sup>7</sup> Costa, A. F.; *Farmacognosia*, 5 edição, Vol 1; Edição da Fundação Calouste Gulbenkian: Lisboa, **1994**.
- <sup>8</sup> Junior, A. F.; *Mamona uma rica fonte de óleo e divisas*, 1<sup>a</sup> ed.; Ed. Ícone: São Paulo, **1986**.
- <sup>9</sup> Assembléia Legislativa do RS, Comissão de Educação, Cultura, Desporto, Ciência e Tecnologia, *Petróleo verde – Uma alternativa para o Rio Grande*, **2000**.
- <sup>10</sup> Spies, J. R.; Coulson, E. J.; *JAOCS*, **1943**, 65, 1720.
- <sup>11</sup> Gardner, H. K. Jr., D'Aquin, E. L.; Koltun, S. P.; McCourtney, E. J.; Vix, H. L. E.; Gastrock, E. A.; *JAOCS*, **1960**, 37,142.
- <sup>12</sup> Mottola, A. C.; Mackey, B.; Herring, V.; *JAOCS*, **1971**, 48, 510.

- 
- <sup>13</sup> Gandhi, V. M.; Cherian, K. M.; Mulky, M. J.; *JAOCS*, **1994**, 71, 8, 827.
- <sup>14</sup> Hinkson, J. W.; Elliger, C. A.; Fuller, G.; *JAOCS*, **1972**, 49, 196.
- <sup>15</sup> Ferraz, A. C.; Angelucci, M. E. M.; Costa, M. L. da; Batista, I. R.; Oliveira, B. H. de; Cunha, C. da; *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **1999**, 63,3, 367.
- <sup>16</sup> Cornell University Poisonous plants informational database; *Ricin toxin from castor bean plant Ricinus communis* <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/ricin/ricin.html>
- <sup>17</sup> Ferraz, A. C.; Pereira, L. F.; Ribeiro, R. L.; Wolfman, C.; Medina, J. H.; Scorza, F. A.; Santos, N. F.; Cavaleiro, E. A.; Cunha, C. da; *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, **2000**, 65, 4, 577.
- <sup>18</sup> Moretto, E.; Fett, R.; *Óleos e gorduras vegetais (processos e análises)*, 2ª edição, Editora de UFSC: Florianópolis, **1989**.
- <sup>19</sup> Canessa, C. E.; Snyder, H. E.; *JAOCS*, **1991**, 68, 9, 675.
- <sup>20</sup> Proctor, A.; Bowen P. J.; *JAOCS*, **1996**, 73, 6, 811.
- <sup>21</sup> Taylor, S. T.; Eller, F. J.; King, J. W.; *Food Research International*, **1997**, 30, 5, 365.
- <sup>22</sup> Borch-Jensen, C.; Jensen, B.; Mathiasen, K.; Mollerup, J.; *JAOCS*, **1997**, 74, 3, 277.
- <sup>23</sup> Marrone, C.; Poletto, M.; Reverchon, E.; Stassi, A.; *Chemical Eng. Science*, **1998**, 53, 21, 3711.
- <sup>24</sup> Reverchon, E.; Marrone, C.; *Journal of Supercritical Fluids*, **2001**, 19, 161.
- <sup>25</sup> Ziller, S.; *Grasas y aceites alimentarios*. Editorial Acribia S. A. Zaragoza, **1996**, 71p.
- <sup>26</sup> Coelho, G. L. V.; Lameira, C. P.; Mothé, C. G.; Anais do XVI Congresso Brasileiro de Ciências e Tecnologia de Alimentos, **1998**, 1, 475.
- <sup>27</sup> Rodrigues, M. R. A.; *Estudo dos óleos essenciais presentes em manjerona*. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação da UFRGS, Porto Alegre, **2002**.
- <sup>28</sup> Papamichail, I.; Louli, V.; Magoulas, K.; *Journal of Supercritical Fluids*, **2000**, 18, 213.
- <sup>29</sup> Gómez, A. M.; López, C. P.; Ossa, E. M. de la; *The Chemical Engineering Journal*, **1996**, 61, 227.
- <sup>30</sup> Carrilho, E. ; Tavares, C.; Lanças, F. M.; *Química Nova*, **2001**, 24, 4, 509.
- <sup>31</sup> Marr, R.; Gamse, T.; *Chemical Engineering and Processing*, **2000**, 39, 19.
- <sup>32</sup> Lanças, F. M.; Vilegas, J. H. Y.; Nossack, A. C.; Vasconcelos, E. C.; Celeghini, R. M. S.; Cappelaro, E. A.; von Bauer, D.; Escalona, A.; Hasegawa, M.; *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **1997**, 17, 4, 418.
- <sup>33</sup> Lanças, F. M.; Dórea, H. S.; Muller, R. A.; Fagundes, C. B.; *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **1997**, 17, 4, 432.

- 
- <sup>34</sup> Maul, A. A.; Wasichy, R.; Bacchi, E. M.; *Rev. Bras. Farmacog.*, **1996**, 5, 185.
- <sup>35</sup> Doneanu, C.; Anitescu, G.; *Journal. of Supercritical Fluids*, **1998**, 12, 59.
- <sup>36</sup> Budich, M.; Brunner, G.; *Fluid Phase Equilibria*, **1999**, 158-160, 759.
- <sup>37</sup> Spricigo, C. B.; Pinto, L. T.; Bolzan, A.; Novais, A. F.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1999**, 15, 253.
- <sup>38</sup> del Valle, J. M.; Bello, S.; Thiel, J.; Allen, A.; Chordia, L.; *Brazilian Journal of Chemical Engineering*. **2000**, 17, 3, página .
- <sup>39</sup> Sthal, E.; Schutz, E.; Mandolg, H. K.; *J. Agric. Food Chem.*, **1980**, 28, 1153.
- <sup>40</sup> Goodrum, J. W.; Kilgo, M. B.; *Energy Agric.*, **1987**, 6, 265.
- <sup>41</sup> Esquivel, M. M.; Bernardo-Gil, M. G.; King, M. B.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1999**, 16, 43.
- <sup>42</sup> Simões, P. C.; Carmelo, P. J.; Pereira, P. J.; Lopes, J. A.; Ponte, M. N. da; Bruner, G.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1998**, 13, 337.
- <sup>43</sup> Favati, F.; Lencioni, L.; Vitis, V. d; Melfi, D., Fiorentini, R.; in *Atti del III Congresso I fluidi supercritici e le loro applicazione*, **1995**, 121.
- <sup>44</sup> List, G. R., Friedrich, J. P., Pominsky, J.; *JAOCS*, **1984**, 61, 1847.
- <sup>45</sup> Ramsay, M. E.; Hsu, J. T.; Novak, R. A.; Reigtlar, W. J.; *Food Technol.*, **1991**, 98.
- <sup>46</sup> Stahl, E.; Quirin, K. W.; Gerard, D.; *Fette, Seifen Anstrichmittel*, **1983**, 85, 458.
- <sup>47</sup> Lanças, F. M.; Vilegas, J. H. Y.; Vasconcelos, E. C.; Celeghini, R. M. S.; *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, **1997**, 17, 4, 413.
- <sup>48</sup> Sato, M.; Goto, M.; Kodama, A.; Hirose, T.; *Chemical Engineering Science*, **1998**, 53, 24, 4095.
- <sup>49</sup> Dauksas, E.; Venskutonis, P. R.; Sivik, B.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1999**, 15, 51.
- <sup>50</sup> Sievers, U.; *Chemical Engineering and Processing*, **1998**, 37, 451.
- <sup>51</sup> King, J. W.; Mohamed, A.; Taylos, S. L.; Mebrahtu, T.; Paul, C.; *Industrial Crops and Products*, **2001**, 14, 241.
- <sup>52</sup> Castro, M. D. L. de; Jiménez-Carmona, M. M.; *Trends in Analytical Chemistry*, **2000**, 19, 4, 223.
- <sup>53</sup> Jeong, M. L.; Chesney, D. J.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1999**, 16, 33.
- <sup>54</sup> Oliveira, D.; Oliveira, J. V.; *J. of Supercritical Fluids*, **2001**, 19, 41.
- <sup>55</sup> Liang, M-T.; Chen, C-H.; Liang, R-C.; *Journal of Supercritical Fluids*, **1998**, 13, 211.
- <sup>56</sup> Aboissa, <http://www.aboissa.com.br>, acessado em **2000**.

- 
- <sup>57</sup> D'Aquin, E. L., Pominski, J.; Vix, H. L. E.; Knoepfler, N. B.; Kulkarni, B. S.; Gastrock, E. A.; *JAOCS*, **1960**, 37,93.
- <sup>58</sup> Akaranta, O.; Anusiem, A. C. I.; *Industrial Crops and Products*, **1996**, 5, 273.
- <sup>59</sup> Lyon, C. K.; Garret, V. H.; *JAOCS*, **1973**, 50, 112.
- <sup>60</sup> Achaya, K. T.; *JAOCS*, **1971**, 48, 758.
- <sup>61</sup> Encyclopedia Kirk Othomer of Chemical Technology, 3 ed., Vol. 5, John Wiley & Sons, **1978**.
- <sup>62</sup> Duke, J. A. *Ricinus communis L. Handbook of Energy Crops*. [http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke\\_energy/Ricinus\\_communis.html](http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Ricinus_communis.html)
- <sup>63</sup> Florea, O.; Luca, M.; Constantinescu, A.; Florescu, D.; 12<sup>th</sup> Romanian International Conference on chemistry and chemical engineering, **2001**.
- <sup>64</sup> *Ingredientes e composição nutricional*, <http://www.doriana.com.br/institucional/guia/ingredientes.asp>, acessado em **2002**.
- <sup>65</sup> *Compresa de aceite de ricino* - <http://saludfamiliar.websitegalaxy.com>, acessado em **2002**.
- <sup>66</sup> Shahidi, F. *Proceedings of the 6<sup>o</sup> Latin America Congress and Exhibit on Fats and Oils*, **1995**, 47.
- <sup>67</sup> Achaya, K. T.; Craig, B.M.; Youngs, C. G.; *JAOCS*, **1964**, 41, 783.
- <sup>68</sup> Payne, H. T.; *Organic coating technology*, vol. 9, Wiley, New York, **1954**.
- <sup>69</sup> Lakshminarayana, G.; Paulose, M.M.; Neeta Kumari, B.; *JAOCS*, **1984**, 61, 12, 1871.
- <sup>70</sup> The Merck Index CD ROM, 11 edição, Merck & Co., Inc., **1989**.
- <sup>71</sup> Ramos, L. C. S.; Tabgo, J. S.; Savi, A.; Leal, N. R.; *JAOCS*, **1984**, 61, 12, 1841.
- <sup>72</sup> Aparicio, R.; Aparicio-Ruiz, R.; *J. of Chromatography A*, **2000**, 881, 93.
- <sup>73</sup> Verleyen, T.; Verhe, R.; Garcia, L.; Dewettinck, K.; Huyghebaert, A.; de Greyt, W.; *J. of Chromatography A*, **2001**, 921, 277.
- <sup>74</sup> AOCS official Methods Ca 6a-40. *Insaponifiable matter*. American Oil Chemists' Society.
- <sup>75</sup> Oliveira, B. H.; Bueno, D. D. *Química Nova*, **1996**, 19, 3, 233.
- <sup>76</sup> Fedeli, E.; Lanzani, A.; Capella, P.; Jacini, G.; *JAOCS*, **1966**, 43, 254.
- <sup>77</sup> Lechner, M., Reiter, B., Lorbeer, E. *J. of Chromatography A*, **1999**, 857, 231.
- <sup>78</sup> Ferrari, R. Ap.; Schulte E.; Esteves, W.; Brühl, L.; Mukherjee, K. D.; *JAOCS*, **1996**, 73, 5, 587.
- <sup>79</sup> Vianni, R.; Braz-Filho, R.; *Química Nova*, **1996**, 19,4, 400.

- 
- <sup>80</sup> Geuking, W.; *Proceedings of the 6<sup>o</sup> Latin America Congress and exhibit on fats and oils*, **1995**, 139.
- <sup>81</sup> Entezari, M. H.; Keshavarzi, A.; *Ultrasonics Sonochemistry*, **2001**, 8, 213.
- <sup>82</sup> Gunstone, F. D.; Hamilton, R. J.; *Oleochemical manufacture and applications*. Sheffield Academic Press, **2001**.
- <sup>83</sup> Diasakou, M.; Louloudi, A.; Papayannakos, N.; *Fuel*, **1998**, 12, 1297.
- <sup>84</sup> Siler-Marinkovic, S.; Tomasevic, A.; *Fuel*, **1998**, 77, 12, 1389.
- <sup>85</sup> Agra, I. B.; Warnijati, S.; Wiratni; *World Renewable Energy Congress*, **1996**, 1025.
- <sup>86</sup> Lie Ken Jie, M. S. F.; Yan-Kit, C.; *Lipids*, **1988**, 23, 4, 367.
- <sup>87</sup> Al-Widyan, M. I.; Al-Shyoukh, A. O.; *Bioresource Technology*, **2002**, 85, 253.
- <sup>88</sup> Al Saadi, A. N.; Jefreys, G. V.; *AIChE Journal*, **1981**, 27, 754.
- <sup>89</sup> Tomasevic, A. V.; Soler-Marinkovic, S. S.; *Fuel Processing Technology*, **2002**, no prelo.
- <sup>90</sup> Demirbaş, A.; *Energy Conversion and Management*, **2002**, 43, 2349.
- <sup>91</sup> Suples, G. J.; Bockwinkel, K.; Lucas, S.; Botts, J. B.; Mason, M. H.; Heppert, J. A.; *JAOCS*, **2001**, 78, 2, 139.
- <sup>92</sup> Barrault, J.; Pouilloux, Y.; Clacens, J. M.; Vanhove, C.; Bancquart, S.; *Catalysis Today*, **2002**, no prelo.
- <sup>93</sup> Kulkarni, N. G.; Krishnamurti, N.; Chatterjee, P. C.; Aggarwal, J. S.; *JAOCS*, **1968**, 46, 465.
- <sup>94</sup> Kulkarni, N. G.; Krishnamurti, N.; Chatterjee, P. C.; Aggarwal, J. S.; *JAOCS*, **1969**, 46, 396.
- <sup>95</sup> Trãn, N. B.; Vialle, J.; Pham, Q. T.; *Polymer*, **1997**, 38, 10, 2467.
- <sup>96</sup> Kremers, F. J.; *JAOCS*, **1971**, 48, 314.
- <sup>97</sup> Diamond, M. J.; Binder, R. G., Applewhite, T. H.; I ; *JAOCS*, **1965**, 42, 882.
- <sup>98</sup> Radlove, S. B.; DeJong, W. N.; Falkenburg, L. B.; *JAOCS*, **1978**, 70, 268.
- <sup>99</sup> Guner, F. S.; *JAOCS*, **1997**, 4, 74, 409.
- <sup>100</sup> Lyon, C. K.; Garret, V. H.; Frankel, E. N.; *JAOCS*, **1974**, 51, 331.
- <sup>101</sup> Modak, S. N.; Kane, J. G.; *JAOCS*, **1965**, 42, 428.
- <sup>102</sup> Dupuy, H. P.; Calderon, R.; McCall, E. R.; O'Connor, R. T.; Goldblatt, L. A.; *JAOCS*, **1959**, 36, 659.
- <sup>103</sup> Foglia, T. A.; Sonnet, P. E.; Nunez, A.; Dudley, R. L.; *JAOCS*, **1998**, 5, 75, 601.



- 
- <sup>104</sup> Mhaskar, S. Y.; Mani, V. V. S.; *JAOCS*, **1994**, 71, 5, 543.
- <sup>105</sup> Trevino, A. S.; Trumbo, D. L.; *Progress in organic coatings*, **2002**, 44, 49.
- <sup>106</sup> Choudhury, R. B. R.; *JAOCS*, **1997**, 74, 4, 419.
- <sup>107</sup> Pouilloux, Y.; Métayer, S.; Barrault, J.; *C. R. Acad. Sci. Paris*, **2000**, 3, 589.
- <sup>108</sup> Erdem-Senatalar, A.; Erencek, E.; Tüter, M.; Erciyas, A. T.; *JAOCS*, **1994**, 71, 9, 1035.
- <sup>109</sup> Drozdowski, B.; *JAOCS*, **1977**, 54, 600.
- <sup>110</sup> Coenen, J. W. E.; *JAOCS*, **1976**, 53, 382.
- <sup>111</sup> Jovanovic, D., Cupic, Z.; Stankovic, M.; Rozic, L.; Markovic, B.; *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **2000**, 159, 353.
- <sup>112</sup> Bailey, A. E.; *JAOCS*, **1949**, 596.
- <sup>113</sup> Puri, P. S.; *JAOCS*, **1978**, 55, 865.
- <sup>114</sup> Lie Ken Jie, M. S. F.; Chan, M. F.; *JAOCS*, **1985**, 62, 1, 109.
- <sup>115</sup> Topallar, H.; Bayrak, Y.; Iscan, M.; *JAOCS*, **1995**, 72, 12, 1519.
- <sup>116</sup> Coenen, J. W. E.; *Chemistry and Industry*, **1978**, 709.
- <sup>117</sup> Vishwanadham, B.; Khan, A.A.; Rao, M. B.; *JAOCS*, **1995**, 72, 9, 1033.
- <sup>118</sup> Trivedi, R. K.; Vasishtha, A. K.; *JAOCS*, **1997**, 74, 8, 957.
- <sup>119</sup> Sreenivasan, B.; Kamath, N. R.; Kane, J. G.; *JAOCS*, **1957**, 34, 302.
- <sup>120</sup> Zajcew, M.; *JAOCS*, **1958**, 35, 475.
- <sup>121</sup> Freedman, B.; Nelson, J. S.; Binder, R. G.; Applewhite, T. H.; *JAOCS*, **1965**, 42, 340.
- <sup>122</sup> An, W.; Hong, J. K.; Pintauro, P. N.; Warner, K.; Neff, W.; *JAOCS*, **1999**, 76, 2, 215.
- <sup>123</sup> An, W.; Hong, J. K.; Pintauro, P. N.; Warner, K.; Neff, W.; *JAOCS*, **1998**, 75, 917.
- <sup>124</sup> An, W.; Hong, J. K.; Pintauro, P. N.; *J. Appl. Electrochem.*, **1998**, 28, 947.
- <sup>125</sup> Rovetto, L. J.; Bottini, S. B.; Brignole, E. A.; Peters, C. J.; *J. of Supercritical Fluids*, **2002**, no prelo.
- <sup>126</sup> Rodrigo, M. T.; Daza, L.; Mendioroz, S.; *Applied Catalysis A: General*, **1992**, 88, 101.
- <sup>127</sup> Gray, J. I.; Russel, L. F.; *JAOCS*, **1979**, 56, 36.
- <sup>128</sup> Holleben, M. L. A. von; Calcagno, C. I. W.; Mauler, R. S.; *Química Nova*, **1999**, 22, 2, 218.
- <sup>129</sup> Dafler, J. R.; *JAOCS*, **1977**, 54, 17.
- <sup>130</sup> Rodrigo, M. T.; Mendioroz, S.; *JAOCS*, **1992**, 69, 8, 802.

- 
- <sup>131</sup> Anderson, J. A.; Rodrigo, M. T.; Dasa, L.; Mendioroz, S.; *Langmuir*, **1993**, 9, 2485.
- <sup>132</sup> Jovanovic, D.; Radovic, R.; Mares, L.; Stankovic, M.; Markovic, B.; *Catalysis Today*, **1998**, 43, 21.
- <sup>133</sup> Chu, Y-H.; Lin, L. H.; *JAOCs*, **1991**, 68, 9, 680.
- <sup>134</sup> Allinger, N. L., Cava, M. P., Jongh, D. C., Johnson, C. R., Lebel, N. A., Stevens, C. L. *Química Orgânica*. 2. ed. Rio de Janeiro, R. J.: Editora Guanabara Koogan S.A., **1978**, 961p.
- <sup>135</sup> Pais da Silva, M. I.; Nery, M. P.; Télez S., C. A.; *Materials Letters*, **2000**, 45, 197.
- <sup>136</sup> Hsu, N. Diosady, L. L.; Rubin, L. J.; *JAOCs*, **1985**, 62, 5, 906.
- <sup>137</sup> Kitayama, Y.; Muraoka, M.; Takahashi, M.; Kodama, T.; Itoh, H.; Takahashi, E.; Okamura, M.; *JAOCs*, **1996**, 73, 10, 1311.
- <sup>138</sup> Hsu, N. Diosady, L. L.; Rubin, L. J.; *JAOCs*, **1988**, 65, 3, 349.
- <sup>139</sup> Brieger, G.; Nestrik, T. J.; *Chemical Reviews*, **1974**, 74, 5, 567.
- <sup>140</sup> Cavinato, G.; Toniolo, L.; *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, **1996**, 106, 25.
- <sup>141</sup> Zajcew, M.; *JAOCs*, **1960**, 37, 11.
- <sup>142</sup> Zajcew, M.; *JAOCs*, **1960**, 37, 130.
- <sup>143</sup> Zajcew, M.; *JAOCs*, **1960**, 37, 473.
- <sup>144</sup> Caceres, L.; Diosady, L. L.; Graydon, W. F.; Rubin, L. J.; *JAOCs* **1985**, 62, 5, 906.
- <sup>145</sup> Kitayama, Y, Takahashi, M.; Sugiyama, H.; Kodama, T.; Okamura, M.; *JAOCs*, **1998**, 75, 1, 27.
- <sup>146</sup> Kitayama, Y.; Muraoka, M.; Takahashi, M.; Kodama, T.; Takahashi, E.; Okamura, M.; *JAOCs*, **1997**, 74, 5, 525.
- <sup>147</sup> Rylander, P. N.; *JAOCs*, **1970**, 47, 482.
- <sup>148</sup> Bello, C.; Diosady, L. L.; Graydon, L. J.; Rubin, L. J.; *JAOCs*, **1985**, 62, 11, 1587.
- <sup>149</sup> Bernstein P. A.; Graydon, W. F.; Diosady, L. L.; *JAOCs*, **1989**, 66, 5, 680.
- <sup>150</sup> Frankel, E. N.; *JAOCs*, **1970**, 47, 11.
- <sup>151</sup> Frankel, E. N.; Awl, R. A.; Friedrich, J. P.; *JAOCs*, **1979**, 56, 965.
- <sup>152</sup> Yoshino, K.; Kajiwara, Y.; Takaishi, N.; Inamoto, Y.; Tsuji, J.; *JAOCs*, **1990**, 67, 1, 21.
- <sup>153</sup> Arkad, O.; Wiener, H.; Garti, N.; Sasson, Y.; *JAOCs*, **1987**, 64, 11, 1529.
- <sup>154</sup> Edvardsson, J.; Irandoust, S.; *JAOCs*, **1994**, 71, 3, 235.
- <sup>155</sup> Beal, R. E.; Lancaster, E. B.; *JAOCs*, **1954**, 31, 619.

- 
- <sup>156</sup> Hughes, J. P.; *JAOCS*, **1953**, 506.
- <sup>157</sup> Elamin, B.; Park, J-W.; Means, G. E.; *Tetradron Letters*, **1988**, 29, 44, 5599.
- <sup>158</sup> Perego, C.; Peratello, S.; *Catalysis Today*, **1999**, 52, 133.
- <sup>159</sup> Braude, E. A.; Linstead, R. P.; *J. Chem. Soc.*, **1954**, 3544.
- <sup>160</sup> Smidovnik, A.; Stimac, A.; Kobe, J.; *JAOCS*, **1992**, 69, 5, 405.
- <sup>161</sup> Smidovnik, A.; Plazl, I.; Koloini, T.; *The Chemical Engineering Journal*, **1993**, 51, B51.
- <sup>162</sup> Smidovnik, A.; Kobe, J.; Leskovsek, S.; Koloini, T.; *JAOCS*, **1994**, 71, 5, 407.
- <sup>163</sup> Naglič, M.; Šmidovnik, A.; *J. of Chromatography A*, **1997**, 767, 335.
- <sup>164</sup> Basu, H. N.; Chakrabarty, M. M.; *JAOCS*, **1966**, 43, 119.
- <sup>165</sup> Chakrabarty, M. M.; Bhattacharyya, D.; Basu, A. K.; *JAOCS*, **1972**, 49, 510.
- <sup>166</sup> Nishiguchi, T.; Tagawa, T.; Imai, H.; Fukuzumi, K.; *JAOCS*, **1977**, 54, 144.
- <sup>167</sup> Ratnayake, W. M. N., Pelletier, G.; *JAOCS*, **1992**, 69, 2, 95.
- <sup>168</sup> Tagawa, T.; Nishiguchi, T.; Fukuzumi, K.; *JAOCS*, **1978**, 55, 332.
- <sup>169</sup> Zucolotto, M. *Esterioquímica e mecanismo de hidrogenação catalítica heterogênea por transferência de hidrogênios de moléculas de hidroaromáticas*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UFRGS, Porto Alegre, **1994**.
- <sup>170</sup> Imai, H.; Nishiguchi, T.; Fukuzumi, K.; *J. Org. Chem.*, **1976**, 41,4, 665.
- <sup>171</sup> Hunter, G. L. K.; Brogden Jr., W. B.; *J. Org. Chem.*, **1963**, 28, 1679.
- <sup>172</sup> Zini, C. A., *Utilização do limoneno como doador de hidrogênios na redução catalítica por transferência de algumas cetonas alicíclicas  $\alpha,\beta$ -insaturadas*. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UFRGS, Porto Alegre, **1990**.
- <sup>173</sup> Zini, C. A.; Holleben, M. L. A von. *Química Nova*, **1992**, 15, 1, 40.
- <sup>174</sup> Holleben, M. L. A von; Zucolotto, M.; Zini, C. A.; Oliveira, E. R.; *Tetrahedron* **1994**, 50, 4, 973.
- <sup>175</sup> Holleben, M. L. A von, Silva, S. M., Mauler, R. S.; *Polymer Bulletin*, **1994**, 33, 203.
- <sup>176</sup> Conti, R. de; Rodrigues, J. A. R.; Moran, P. J. S.; *Química Nova*, **2001**, 24, 5, 672.
- <sup>177</sup> Borzani, W.; Schnidell, W.; Lima, U. de A.; Aquarone, E.; *Biotecnologia Industrial. Fundamentos*. Vol. 1; Ed Edgard Blücher Ltda., **2001**.
- <sup>178</sup> Tüter, M.; *JAOCS*, **1998**, 75, 3, 417.
- <sup>179</sup> Diez, T. A.; Mata-Segreda, J. F.; *Phytochemistry*, **1985**, 24, 12, 3047.

- 
- <sup>180</sup> Welsh, F. H.; Murray, W. D.; Williams, R. E.; *Critical Review in Biotechnology*, **1989**, 9, 105.
- <sup>181</sup> Jaeger, K-E.; Eggert, T.; *Protein technologies and comercial enzymes*, **2002**, 390p.
- <sup>182</sup> Castro, H. F.; Anderson, W. A.; *Química Nova*, **1995**, 18, 6, 544.
- <sup>183</sup> Coteron, A.; Martinez, M.; Aracil, J.; *JAOCS*, **1998**, 75, 5, 657.
- <sup>184</sup> McNeill, G. P.; Yamane, T.; *JAOCS*, **1991**, 68, 1, 6.
- <sup>185</sup> Oliveira, D.; *Estudo comparativo da produção enzimática de ésteres a partir de óleos vegetais em solventes orgânicos e CO<sub>2</sub> supercrítico*. Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação de Engenharia da Universidade Federal do Rio de Janeiro, **1999**.
- <sup>186</sup> Mukherjee, K. D.; *Proceedings of the 6<sup>o</sup> Latin America Congress and exhibit on fats and oils*, **1995**, 67.
- <sup>187</sup> Crueger, W., Crueger, A. *Biocologia: Manual de microbiologia industrial*. Ed. Acribia S.A., Zaragoza, **1989**, 413p.
- <sup>188</sup> Gao, X.-G.; Cao, S.-G.; Zhang, K.-C.; *Enzyme and Microbial Technology*, **2000**, 27, 74.
- <sup>189</sup> Ban, K.; Kaieda, M.; Matsumoto, T.; Kondo, A.; Fukuda, H.; *Biochemical Engineering Journal*, **2001**, 8, 39.
- <sup>190</sup> Fureby, A. M.; Tian, L.; Adlercreutz, P.; Mattiasson, B.; *Enzyme and Microbial Technology*, **1997**, 20, 198.
- <sup>191</sup> Ma, F.; Hanna, M.; *Bioresource Technology*, **1999**, 70, 1.
- <sup>192</sup> Nelson, L. A.; Foglia, T. A.; Marmer, W. N.; *JAOCS*, **1996**, 73, 8, 1191.
- <sup>193</sup> Darnoko, D.; Cheryan, M.; *JAOCS*, **2000**, 77, 12, 1269.
- <sup>194</sup> Iso, M.; Chen, B.; Eguchi, M.; Kudo, T.; Shrestha, S.; *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2001**, 16, 53.
- <sup>195</sup> Mittelbach, M.; *JAOCS*, **1990**, 67, 3, 168.
- <sup>196</sup> Linko, Y-Y, Lämsä, M.; Wu, X.; Uosukainen, E.; Seppälä, Linko, P.; *J. of Biotechnology*, **1998**, 66, 41.
- <sup>197</sup> Ottolina, G.; Bovara, R.; Riva, S.; Carrea, G.; *Biotechnology Letters*, **1994**, 16, 9, 923.
- <sup>198</sup> Laane, C.; *Biocatalysis*, **1987**, 1, 17.
- <sup>199</sup> Khmeltnitsky, Yu. L.; Levashov, A. V.; Klyachko, N.; Mart, K.; *Enzyme Microb. Technol.*, **1988**, 10, 710.
- <sup>200</sup> Malcata, F. X.; Reyes, H. R.; Garcia, H. S.; Hill, C. G.; Amundson, C. H.; *JAOCS*, **1990**, 67, 502.

- 
- <sup>201</sup> Köse, Ö.; Tüter, M.; Aksoy, H. A.; *Bioresource Technology*, **2002**, 83, 125.
- <sup>202</sup> Shimada, Y.; Watanabe, Y.; Sugihara, A.; Tominaga, Y.; *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, **2002**, 17, 133.
- <sup>203</sup> Peterson, C. L.; Hustrulid, T.; *Biomass and Bioenergy*, **1998**, 14, 2, 91.
- <sup>204</sup> Costa Neto, P. R.; Rossi, L. F. S.; Zagonel, G. F.; Ramos, L. P.; *Química Nova*, **2000**, 23, 4, 531.
- <sup>205</sup> Srivastava, A.; Prasad, R.; *Renowable and Sustainable Reviews*, **2000**, 4, 111.
- <sup>206</sup> Tat, M. E.; van Gerpen, J. H.; *JAOCs*, **2000**, 77, 2, 115.
- <sup>207</sup> Kalayasiri, P.; Jeyashok, N. Krisnangkura, K.; *JAOCs*, **1996**, 73, 4, 471.
- <sup>208</sup> Tautz, C., *Ecologia e desenvolvimento*, **2002**, 103, 14.
- <sup>209</sup> Kothe, G.; Dunn, R. O.; *Biofuels derived from vegetable oils and fats*. In.: Gunstone, F. D.; Hamilton, R. J.; *Oleochemical manufacture and applications*. Sheffield Academic Press, **2001**.
- <sup>210</sup> Kalam, M. A.; Masjuki, H. H.; *Biomass and Bioenergy*, **2002**, 23, 471.
- <sup>211</sup> Abigor, R. D.; Uadia, P. O.; Foglia, T. A.; Haas, M. J.; Jones, K. C.; Okpefa, E.; Obibuzor, J. U.; Bafor, M. E.; *Biochemical Society Transactions*, **2000**, 28, 6, 979.
- <sup>212</sup> Governo do estado do Paraná; <http://www.curitiba.pr.gov.br>
- <sup>213</sup> Haas, M. J.; Bloomer, S.; Scout, K.; *JAOCs*, **2000**, 77, 4, 373.
- <sup>214</sup> Pizarro, A. V. L.; Park, E. Y.; *Process Biochemistry*, **2002**, no prelo.
- <sup>215</sup> Gomes, T.; Caponio, F.; *J. of Chromatography A*, **1999**, 844, 77.
- <sup>216</sup> Schuchardt, U.; Lopes, L. C.; *JAOCs*, **1988**, 65, 12, 1940.
- <sup>217</sup> Imbs, A. B.; Pham, L. Q.; *Phytochemistry*, **1996**, 42, 4, 1051.
- <sup>218</sup> Jeyashoke, N.; Krinangkura, K.; Chen, S-T.; *J. of Chromatography A*, **1998**, 818, 133.
- <sup>219</sup> Herrera, M. L.; Segura, J. A.; Añon, M. C.; *JAOCs*, **1991**, 68, 11, 793.
- <sup>220</sup> Browse, J.; McCourt, P. J.; *Anal. Biochem.*, **1986**, 152, 141.
- <sup>221</sup> Duchateau, G. S. M. J. E.; van Oosten, H. J.; Vasconcellos, M. A.; *JAOCs*, **1996**, 73, 3, 275.
- <sup>222</sup> Chance, D. L.; Gerhardt, K. O.; Mawhinney, T. P.; *J. of Chromatography A*, **1998**, 793, 91.
- <sup>223</sup> Wheelan, P.; Zirrolli, J. A.; Murphy, R. C.; *J. Am. Soc Mass Spectrom.*, **1995**, 6, 40.
- <sup>224</sup> Plank, C.; Lorbeer, E.; *Journal of Chromatography A*, **1995**, 697, 461.

- 
- <sup>225</sup> Reiter, B.; Lechner, M.; Lorbeer, E.; Aichholz, R.; *J. High Resol. Chromatogr.*, **1999**, 22, 9, 514.
- <sup>226</sup> Valente, A. L. P.; Augusto, F.; *Química Nova*, **2000**, 23, 4, 523.
- <sup>227</sup> Ballesteros, E.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *Analytica Chimica Acta*, **1995**, 308, 253.
- <sup>228</sup> Moreda, W.; Pérez-Camino, M. C.; Cert, A.; *J of Chromatography A*, **2001**, 936, 159.
- <sup>229</sup> Dowd, M. K.; *J. of Chromatography A*, **1998**, 816, 185.
- <sup>230</sup> Phillips, K. M.; Ruggio, D. M.; Torvo, J. I.; Swank, M. A.; Simpkins, A. H.; *Journal of Food Composition and Analysis*, **2002**, 15, 123.
- <sup>231</sup> Ballesteros, E.; Gallego, M.; Valcárcel, M.; *J. of Chromatography A*, **1996**, 719, 221.
- <sup>232</sup> Hites, R. A.; *Gas Chromatography Mass Spectrometry. In. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*; Settle, F. editor; Prentice-Hall, Inc.: New Jersey, **1997**.
- <sup>233</sup> Christie, W. W.; In. *Gas Chromatography and lipids. A practical Guide*. The oily press. Scotland, **1992**.
- <sup>234</sup> Platner, R. D.; Gardner, H. W., Kleiman, R., *JAOCS*, **1983**, 60, 7, 1298.
- <sup>235</sup> Byrdwell, W. C.; Neff, W. E.; *J of Chromatography A*, **1999**, 852, 417.
- <sup>236</sup> Pérez-Camino, M. C.; Moreda, W.; Cert, A.; *J of Chromatography A*, **1996**, 721, 305.
- <sup>237</sup> López-López, A.; Castellote-Bargalló, A. I.; López-Sabater, M. C.; *J. of Chromatography B*, **2001**, 760, 97.
- <sup>238</sup> Arnaldsson, K. C.; Kaufmann, P.; *Chromatographia*, **1994**, 38, 5/6, 317.
- <sup>239</sup> Lee, D.-S.; Lee, E.-S.; Kim, H.-J.; Kim, S.-O.; Kim, K.; *Analytica Chimica Acta*, **2001**, 429, 321.
- <sup>240</sup> Holčapek, M.; Bandera, P.; Fischer, J.; Prokeš, B.; *J. of Chromatography A*, **1999**, 858, 13.
- <sup>241</sup> Řezanka, T.; Mares, P.; *J. of Chromatography*, **1991**, 542, 145.
- <sup>242</sup> Vreuls, J. J.; de Jong, G. J.; Brinkman, *Chromatographia*, **1991**, 31, 113.
- <sup>243</sup> Sedman, J.; van de Voort, F. R.; Ismael, A. A.; Maes, P.; *JAOCS*, **1998**, 75, 1, 33.
- <sup>244</sup> Adam, M.; Mossoba, M. M.; Lee, T.; *JAOCS*, **2000**, 77, 5, 457.
- <sup>245</sup> Mossoba, M. M.; McDonald, R. E.; Chen, J.-Y. T.; Armstrong, D. J.; Page, S. W.; *J Agric. Food, Chem.*, **1990**, 38, 86.
- <sup>246</sup> Hendl, O.; Howell, J. A.; Lowery, J.; Jones, W.; *Analytica Chimica Acta*, **2001**, 427, 75.
- <sup>247</sup> Hsu, P. S.; *Infrared Spectroscopy. In. Handbook of Instrumental Techniques for Analytical Chemistry*; Settle, F. editor; Prentice-Hall, Inc.: New Jersey, **1997**.

- 
- <sup>248</sup> Ferrão, M. F.; *Tecnológica*, **2001**, 5, 1, 63.
- <sup>249</sup> Velasco, L.; Pérez-Vich, B.; Fernández-Martínez, J. M.; *JAOCS*, **1998**, 75, 12, 1883.
- <sup>250</sup> Li, H.; van de Voort, F. R.; Sedman, J.; Ismael, A. A.; *JAOCS*, **1999**, 76, 4, 491.
- <sup>251</sup> Mayake, Y.; Yokomizo, K.; Matsuzaki, N.; *JAOCS*, **1998**, 75, 1, 15.
- <sup>252</sup> Mayake, Y.; Yokomizo, K.; Matsuzaki, N.; *JAOCS*, **1998**, 75, 9, 1091.
- <sup>253</sup> Husain, S.; Kifayatullah, M.; Sastry, G. S. R.; Raju, N. P.; *JAOCS*, **1993**, 70, 12, 1251.
- <sup>254</sup> Pfeffer, P. E.; Luddy, F. E.; Unruh, J.; *JAOCS*, **1977**, 54, 380.
- <sup>255</sup> Wollenberg, K. F.; *JAOCS*, **1990**, 67, 8, 487.
- <sup>256</sup> Ferrão, M. F.; *Aplicação de Técnicas Espectroscópicas de Reflexão no Infravermelho no Controle de Qualidade de Farinha de Trigo*, Tese de Doutorado apresentado na UNICAMP, Campinas, **2000**.
- <sup>257</sup> Moita Neto, J. M.; Lima, J. R.; Gonçalves, L. A. G.; *Proceedings of the 6<sup>o</sup> Latin America Congress and exhibit on fats and oils*, **1995**, 307.
- <sup>258</sup> Dupuy, N.; Duponchel, L.; Huvenne, J. P.; Sombret, B.; Legrand, P.; *Food Chemistry*, **1996**, 57, 245.
- <sup>259</sup> Dahlberg, D. B.; Lee, S. M.; Wenger, S. J.; Vargo, J. A.; *Appl. Spectrosc.*, **1997**, 51, 1118.
- <sup>260</sup> Lee, D.-S.; Noh, B.-S.; Bae, S.-Y.; Kim, K.; *Analytica Chimica Acta*, **1998**, 358, 163.
- <sup>261</sup> Okuyama, S.; Mitsui, T.; Ishida, Y.; OTAN, H.; Tsuge, S.; *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, **2002**, 64, 187.
- <sup>262</sup> Fienberg, M.; Bugner, E.; *Anal. Chim. Acta.*, **1989**, 223, 223.
- <sup>263</sup> Ni, Y.; Gong, X.; *Anal. Chim. Acta.*, **1997**, 354, 163.
- <sup>264</sup> Schönherr, A.; Hüning, S. L.; Ferrão, M. F.; Jandrey, A.; *Tecnológica*, **1998**, 2, 9.
- <sup>265</sup> Steele, D.; *Spectroscopy Europe*, **1996**, 8, 34.
- <sup>266</sup> Ferreira, M. M. C.; Morgano, M. A.; de Queiroz, S. C. N.; Montovani, D. M. B.; *Food Chemistry*, **2000**, 69, 259.
- <sup>267</sup> Back, D. F.; Hüning, S. L.; Ferrão, M. F.; Davanzo, C. U.; *Livro de Resumos do 11<sup>o</sup> Encontro Nacional de Química Analítica*, **2001**.
- <sup>268</sup> Armanino, C.; Festa, M. R.; *Anal. Chim. Acta*, **1996**, 331, 43.
- <sup>269</sup> Scarponi, G.; Moreti, I.; Capodaglio, G.; Romanazzi, M.; *J. Chemometr.*, **1990**, 4, 217.
- <sup>270</sup> Blanco, M.; Colello, J.; Iturriaga, H.; MasPOCH, S.; de la Pezuela, C.; *Analyst*, **1998**, 123, 135.

- 
- <sup>271</sup> Schönherr, A.; Hüning, S. L.; Ferrão, M. F.; Jandrey, A.; *Tecnológica*, **1998**, 2, 1, 9.
- <sup>272</sup> Ferreira, M. M. C.; Antunes, A. M.; Melgo, M. S.; Volpe, P. L. O.; *Química Nova*, **1999**, 22, 724.
- <sup>273</sup> Lameira, C. P.; Coelho, G. L. V.; Mothé, C. G.; *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, **1997**, 17, 4, 405.
- <sup>274</sup> Reverchon, E.; Marrone, C.; *Journal of Supercritical Fluids*, **2001**, 19, 161.
- <sup>275</sup> Melecchi, M. I. S.; *Metodos comparatives de extracción aplicados al estudio de Hibiscus tiliaceus L.* Tese de doutorado do Instituto de Farmácia y Alimentos. Havana- Cuba, **2002**.
- <sup>276</sup> Brasil, M. C. *Estudo comparativo de sistemas de epoxidação do óleo de soja.* Dissertação de Mestrado da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, **2000**.
- <sup>277</sup> Pretsch, E., Simon, W., Seibl, J., Clerc, T. *Spectral data for structure determination of organic compounds: <sup>13</sup>C-NMR, <sup>1</sup>H-NMR, IR, MS, UV/VIS.* 2 ed. Berlim, **1989**.
- <sup>278</sup> Kim, B. K.; *Food Sci. Biotechnol.*, **2001**, 10, 3, 305.
- <sup>279</sup> Zucolloto, M.; *Estereoquímica e mecanismo de hidrogenação catalítica heterogênea por transferência de hidrogênio de moléculas hidroaromáticas*, Dissertação de mestrado apresentada na Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Curso de Pós-Graduação em Química, Porto Alegre, **1994**.
- <sup>280</sup> Schneider, R. C. S.; Baldissarelli, V. Z.; Martinelli, M.; Holleben, M L A von; Caramão, E. B.; *Journal Of Chromatography - A*, **2003**, 985, 313.
- <sup>281</sup> Brown, D. W.; *Journal of Chemical Education*, **1985**, 62, 3, 209.
- <sup>282</sup> Schneider, R. C. S.; Baldissarelli, V. Z., Trombetta, F., Martinelli, M., Caramão, E. B.; *Optimization of GC-MSD analysis for fatty acids in hydrogenated castor oil obtained by Catalytic Transfer Hydrogenation*, submetido ao *Journal of the Brazilian Chemical Society*, **2002**.