

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SECRETARIA DE
EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E TECNOLÓGICA
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE SANTA CATARINA
CAMPUS JARAGUÁ DO SUL

ALANA GABRIELA ROCHA
AMANDA CAROLINE DO NASCIMENTO
ANDRÉ JORDÍ VOLKMANN
CAROLINE FOSSILE
JÉSSICA MARA MACHADO

**ESTERIFICAÇÃO E TRANSESTERIFICAÇÃO VIA ENZIMÁTICA A PARTIR DE
LIPASES PRESENTES NO LÁTEX DE ORIGEM VEGETAL PROVENIENTE DA
PLANTA *EUPHORBIA TIRUCALLI***

Projeto de Pesquisa
Conectando os Saberes
Curso Técnico em Química (modalidade: Integrado): 3ª Fase

JARAGUÁ DO SUL
2016

ALANA GABRIELA ROCHA
AMANDA CAROLINE DO NASCIMENTO
ANDRÉ JORDÍ VOLKMANN
CAROLINE FOSSILE
JÉSSICA MARA MACHADO

**ESTERIFICAÇÃO E TRANSESTERIFICAÇÃO VIA ENZIMÁTICA A PARTIR DE
LIPASES PRESENTES NO LÁTEX DE ORIGEM VEGETAL PROVENIENTE DA
PLANTA *EUPHORBIA TIRUCALLI***

Projeto de pesquisa desenvolvido no eixo
formativo “Conectando os Saberes” do Curso
Técnico em Química (Modalidade: Integrado) de
Instituto federal de Santa Catarina – Campus
Jaraguá do Sul.
Orientador: Elder Correa Leopoldino.

JARAGUÁ DO SUL
2016

SUMÁRIO

1 TEMA.....	4
2 DELIMITAÇÃO DO TEMA.....	4
3 PROBLEMA	4
4 HIPÓTESES.....	4
5 OBJETIVO GERAL.....	4
5.1 Objetivos específicos.....	4
6 JUSTIFICATIVA.....	5
7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	6
7.1 Histórico da planta.....	6
7.1.1 <i>Propriedades da planta</i>	7
7.2 Biocatalisadores.....	7
7.2.1 <i>Enzimas</i>	8
7.2.2 <u>Lipases</u>	11
7.3 Ésteres.....	13
7.4. Métodos de obtenção.....	13
7.4.1 <i>Esterificação de Fischer</i>	13
7.5 Esterificação enzimática.....	14
7.6 Transesterificação.....	14
7.7 Biodiesel.....	15
7.8 Ésteres e a indústria.....	17
7.9 Métodos atuais de purificação e caracterização de ésteres.....	19
7.9.1 <i>Destilação simples</i>	19
7.9.2 <u>Extração por solvente</u>	19
7.9.3 <u>Índice de refração</u>	19
7.9.4 <u>Cromatografia de camada delgada</u>	20
7.9.5 <u>Espectroscopia de infravermelho</u>	20
8 METODOLOGIA.....	21
8.1 Síntese dos ésteres.....	21
8.2 <i>Síntese do biodiesel</i>	21
8.3 <u>Avaliação da atividade catalítica</u>	22
8.4 <u>Caracterização</u>	23
9 CRONOGRAMA.....	23

REFERÊNCIAS.....	24
------------------	----

1 TEMA

Esterificação e transesterificação via enzimática a partir de lipases presentes no látex de origem vegetal proveniente da planta *Euphorbia tirucalli*.

2 DELIMITAÇÃO DO TEMA

Produção de ésteres de aroma e biodiesel através da atividade catalítica da enzima lipase contida no látex presente na aveloz (*Euphorbia tirucalli*).

3 PROBLEMA

Grande parte da produção de ésteres de aroma e biodiesel atualmente são realizadas utilizando catalisadores, porém o emprego de biocatalisadores é pouco difundido. A enzima responsável por catalisar essas reações, geralmente, é a lipase, obtidas comercialmente (origem microbiana) ou naturalmente. A lipase contida na planta aveloz (*Euphorbia tirucalli*) possui eficiência catalítica para as reações de esterificação e transesterificação?

4 HIPÓTESES

- O látex contido em partes da planta será eficiente nas reações propostas.
- Para as reações serão necessárias pequenas quantidades de látex da planta.
- Os ésteres, utilizando como catalisador as enzimas do látex da planta *Euphorbia tirucalli*, serão formados de maneira mais rápida que os catalisadores em meio ácido.
- O rendimento e a pureza do biodiesel com esse catalisador serão melhores.

5 OBJETIVO GERAL

Verificar a atividade enzimática das lipases contidas na planta da espécie *Euphorbia tirucalli* na produção de ésteres de aroma e biodiesel.

5.1 Objetivos específicos

- Utilizar o látex da planta aveloz através de cortes perpendiculares aos ramos da planta.
- Realizar a esterificação e transesterificação com lipase imobilizada na própria planta aveloz.
- Comparar a atividade catalítica através dos rendimentos das reações na produção de biodiesel e ésteres de aroma.
- Purificar os produtos obtidos na esterificação através de técnicas como destilação e extração líquido-líquido.
- Caracterizar os produtos obtidos por espectroscopia de infravermelho e índice de refração.

- Verificar também a pureza dos ésteres utilizando cromatografia de camada delgada.
- Verificar o produto obtido na transesterificação através da queima do mesmo.

6 JUSTIFICATIVA

A planta da espécie *Euphorbia tirucalli*, também conhecida como aveloz ou pau-pelado, dentre outros nomes, é uma planta pertencente à família *Euphorbiaceae*, que, entre outras características, produz um líquido branco, conhecido por látex, que é altamente tóxico. Essa planta é de origem africana, porém foi levada para outros países tropicais, como o Brasil, onde se adaptou e começou a ser utilizada pela comunidade científica para diversos (CRUZ, 1964 & DANTAS 2007 apud COSTA, 2011).

Apesar de seu látex ser muito utilizado para tratar inúmeras doenças, sua principal aplicação no meio científico se dá em pesquisas relacionadas ao tratamento do câncer. Esse látex contém lipase, uma enzima muito utilizada como catalisador em reações de hidrólise, por exemplo. Porém há pouco estudo sobre a utilização da lipase na forma bruta nessas sínteses, visto que a maioria das enzimas utilizadas são comerciais, sendo em sua maioria produzidas por bactérias (MESSIAS et al. 2011)

No âmbito da indústria, o aroma de um determinado produto é um fator que se destaca, pois, influencia o consumidor na decisão da compra, convencendo-o através do plano sensorial de que o mesmo possui qualidades. Dessa forma, segundo Vanin (2014), a produção de aromatizantes via esterificação enzimática é uma pesquisa de grande interesse científico e tecnológico devido às inúmeras inconveniências relacionadas com a catálise ácida, principalmente pelo fato de não se adequarem à expressão “tecnologia limpa”, ademais, as lipases microbianas apresentam um custo elevado no processo de produção das mesmas, que pode inviabilizar o processo em escala industrial (BIANCHI et al 2001; SINGHANIA et al, 2009 apud. MESSIAS et al, 2011).

Existe outra vertente relacionada aos ésteres, o óleo diesel, que é amplamente utilizado pelas indústrias petroquímicas que o direcionam à venda e utilização deste como combustível. Porém, a sua fonte, o petróleo, não é renovável, e sua extração pode causar diversos impactos ambientais. Apesar de possuir uma menor energia se comparado ao óleo diesel, este combustível é fabricado a partir de fontes de energia renováveis e não causam tantos danos ao meio ambiente, em relação ao balanço de carbono na atmosfera. Observado o seu elevado custo de produção, constata-se que a utilização de enzimas como catalisadores para a fabricação do biodiesel altera positivamente este fator. (FIORESE et al, 2011)

Devido ao pouco estudo envolvendo a catálise enzimática com o látex dessa planta, assim como a sua elevada importância no que se refere a sustentabilidade, a presente pesquisa visa estudar a viabilidade da utilização da enzima lipase, oriunda do látex presente na *Euphorbia tirucalli*, em reações de transesterificação, com foco nas reações de esterificação.

7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

7.1 Histórico da planta

Segundo Costa (2011), o aveloz é originário do continente africano, de onde foi levado para outros países tropicais. Pertencente à família das *Euphorbiaceae*, a planta pode atingir até 7 metros de altura e 15 centímetros de diâmetro, possui galhos duros, cilíndricos e verticulados, como é possível observar na Figura 1. Raramente, possui flores com coloração amarelada ou esverdeada, porém, o período de duração das mesmas é curto.

Figura 1. Foto da planta *Euphorbia tirucalli*, também conhecida como Aveloz e pau-pelado



Fonte: <http://www.rain-tree.com/Plant-Images/aveloz-pic.htm#.WDJiCtrlLIU>

O aveloz é utilizada como cerca viva, suas plantações servem como excelente proteção contra invasores. A planta produz um látex, que irrita a pele e também os olhos, podendo provocar uma conjuntivite gravíssima (SCHVARTSMAN, 1979 apud OLIVEIRA & NEPOMUCEMO, 2003).

O aveloz chegou ao Brasil em 1892 e pode ser encontrado na maioria dos estados do Nordeste Brasileiro devido ao seu característico clima quente, sendo encontrado principalmente nas caatingas da Bahia e em regiões à beira-mar. Apesar de ser uma planta já antiga no Brasil, diversas *Euphorbiaceae* ainda são confundidas com o Aveloz no país (OLIVEIRA & NEPOMUCEMO, 2003; NEODINI & GASPI, 2015 apud SCHVARTSMAN, 1979; VARRICCHIO et. al, 2008).

Segundo Costa (2011), o aveloz ficou conhecido no Brasil como mata-verrugas, pois sua seiva era utilizada no Nordeste e no Amazonas, sendo considerada muito eficaz no tratamento de verrugas e tumores, principalmente na face.

O médico brasileiro Lauro Neiva chegou a utilizar por cerca de dez anos o látex do aveloz, diluído em água, para tratar de diversas doenças como o câncer e a doença de chagas. Desde 1997 o extrato etanólico total de caule vem sendo utilizado para tratamento terapêutico de pacientes com imunodeficiências tais como SIDA e colagenoses, pelo Instituto Hahnemanniano do Brasil (IHB) (VARRICCHIO et. al, 2008).

A *Euphorbia tirucalli* também é usada na medicina para tratamento de verrugas, asma, tosse, dor de ouvido, nevralgias, reumatismo e, em alguns países, contra dor de dente. Mais recentemente vêm sendo utilizada como complemento de tratamento de tumores cancerosos e pré-cancerosos (LYMAN et. al, 1988 apud. NEODINI & GASPI, 2015; OLIVEIRA & NEPOMUCENO, 2003).

7.1.1 Propriedades da planta

De acordo com Neodini & Gaspi (2015), é possível extrair de todas as partes da planta um látex cáustico, esse látex é considerado tóxico por haver registros de acidentes toxicológicos por conta do contato com o mesmo, como distúrbios gastrointestinais, conjuntivites, irritação e edemas oculares e até cegueira, além de reações inflamatórias e necrose quando em contato com a epiderme (MATOS, 2000 apud. LORENZI & MATOS, 2008; BATISTA et al., 2014; NEODINI & GASPI, 2015).

O látex é composto por uma complexa mistura de diferentes componentes, incluindo macromoléculas. Um dos componentes majoritários do látex é o *cis* e/ou *trans* poli-isopreno. Outros constituintes presentes no látex e relatados em estudos fitoquímicos são: polissacarídeos, flavonóides, lipídios, fosfolipídios e proteínas, ficou comprovado também a existência de alcanos, cetonas triterpênicas, triterpenóides, açúcares e ácidos graxos (RIPPEL, 2005 apud AGOSTINI, 2009). O látex ainda possui lipases de diversos usos, mas que ainda não foram objetos de muitos estudos.

O látex da *Euphorbia tirucalli* é formado pelos princípios ativos:

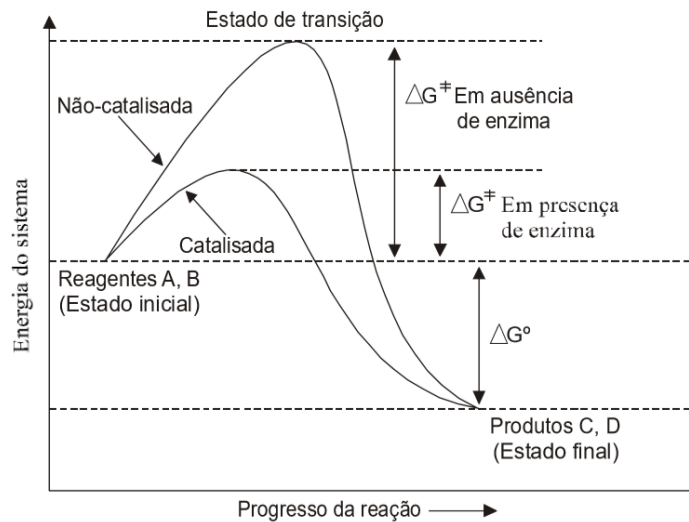
[...]resina, matéria cerífera (25,7%), caoutechouc (6,24%) (substância cáustica), princípio amargo, albumina (0,7%), avelosina (0,9%), proteína, 12-O-(2z)(4e)-octadienoil-4-deoxiforbol\l-13-acetato, euphol, euphorbol, euphorona, isoeuphoral, taraxasterol, tirucalol, ácido cítrico, glicose, kamepferol, ácido málico, acetato de sapogenina, ácido succínico, ácido 3,3'-di-O-metilelágico, ácido beta-sitosterol eláico, hentriacontanol, taraxerina, triterpenos, hidrocarboneto, ácido orgânico, ácido elágico, euphone, glicosehentriacontanol, isoeuphoral e taraserina. (CÉSAR, 1956; NEIVA, 1968; COSTA, 2010 apud DANTAS, 2007).

Como já mencionado, alguns herbalistas recomendam o uso do látex, em pequenas doses, para o tratamento do câncer, visto que testes mostraram a atividade imunossupressora da seiva e extratos da planta total (NEODINI e GASPI, 2015). Contudo, testes farmacológicos já demonstraram que as mesmas partes da planta são responsáveis pela ativação do vírus Epstein-Barr, que está ligado ao desenvolvimento do linfoma de Burkitt (LORENZI & MATOS, 2008 apud NEODINI & GASPI, 2015).

7.2 Biocatalisadores

Os biocatalisadores ou catalisadores biológicos são proteínas cuja função é acelerar reações no organismo. No âmbito da química, sua utilização deve-se ao fato de serem uma alternativa aos processos químicos, nos quais apresentam vantagens como a elevada velocidade de reação, pelo fato de diminuir a energia necessária para que as mesmas ocorram, como demonstra a Figura 2, e apresentarem certa seletividade quanto ao tipo de reação que catalisam (PAQUES & MACEDO, 2005).

Figura 2. Diagrama energético de reação catalisada e de reação não-catalisada, onde: G^\ddagger = energia livre de ativação, G^0 = variação de energia livre.



Fonte: MOTTA, 2007.

As reações podem ser catalisadas por enzimas, proteínas biocatalisadoras, nas quais há a necessidade de determinada quantidade de energia – denominada energia de ativação (E_a) ou energia livre de ativação- para que estas ocorram, permitindo a formação do complexo ativado – ou estado de transição- que caracteriza-se como o ponto de maior energia da reação, na qual os reagentes se encontram de forma intermediária de alta energia em seu estado ativado (MOTTA, 2007).

De acordo com o gráfico da Figura 2, observa-se que, quanto maior o valor de G , menor será a velocidade da reação. Deste modo, os catalisadores atuam de forma a aumentar essa velocidade a partir da diminuição da energia livre de ativação, escolhendo rotas potenciais que possibilitem que a reação ocorra com a menor energia possível. Cada reação é catalisada por uma enzima específica, sob condições apropriadas. A atividade de cada enzima depende de fatores como o pH, a temperatura, a concentração de substratos e produtos e da presença de vários cofatores, ou seja, substâncias necessárias ao funcionamento das enzimas (MOTTA, 2007).

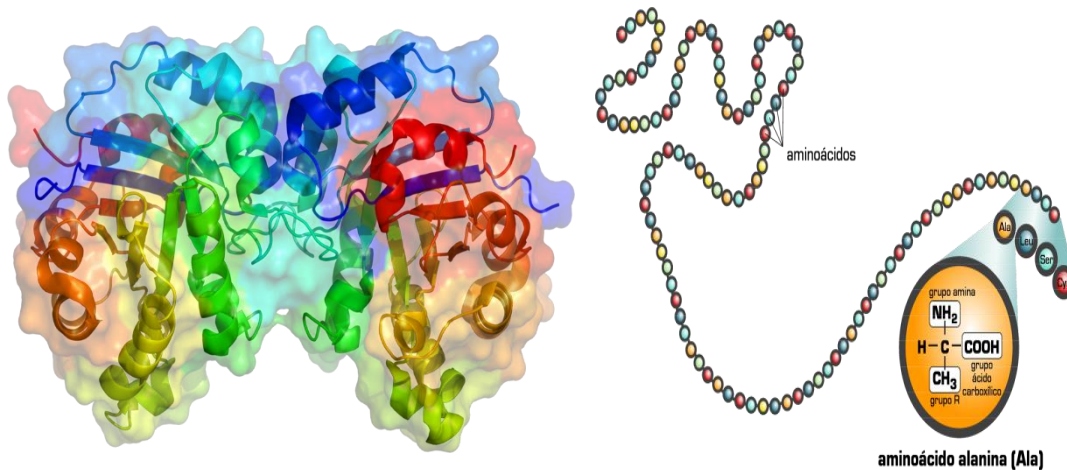
7.2.1 Enzimas

Segundo Silva (2015), as enzimas em geral são proteínas, com exceção de um pequeno grupo de moléculas de ácido ribonucleico, e tem como principal função catalisar reações.

Quimicamente, as enzimas são macromoléculas de alta massa molecular formadas por subunidades conhecidas por aminoácidos, unidos por ligações peptídicas. Os resíduos de aminoácidos formam ligações covalentes entre si, pelo grupo amino de um aminoácido com o grupamento carboxílico de outro, constituindo cadeias polipeptídicas extensas, que assumem um arranjo espacial complexo sendo a sua forma estrutural difícil de ser determinada (NETO, p.32, 2002).

As proteínas são formadas por aminoácidos, que por sua vez são formados a partir da ligação de um grupo carboxílico e um grupo amina diretamente a um Carbono, Carbono este que também estará ligado a um Hidrogênio e uma cadeia representada por R, assim representado na Figura 3.

Figura 3. Na esquerda a estrutura quaternária de uma proteína. Na direita a estrutura do aminoácido alanina, como exemplo de uma parte da proteína.



Fonte 1: <http://ciclodiferente.blogspot.com.br/2014/04/enzimas.html>;

Fonte 2: <http://news.slnutrition.com/2012/12/proteinas/>

Segundo Gris (2010) a velocidade de uma reação que utiliza a enzima como catalisador pode aumentar 10^{20} vezes. Para que essa aceleração ocorra, a enzima diminui a energia de ativação necessária para realizar tal reação. Segundo Vescovi (2012) elas realizam essas catálises através da quebra ou junção de moléculas alvo da reação, os chamados substratos, que por sua vez dão origem a novos compostos. A catálise ocorre no sítio ativo da enzima, que localiza-se na superfície da mesma.

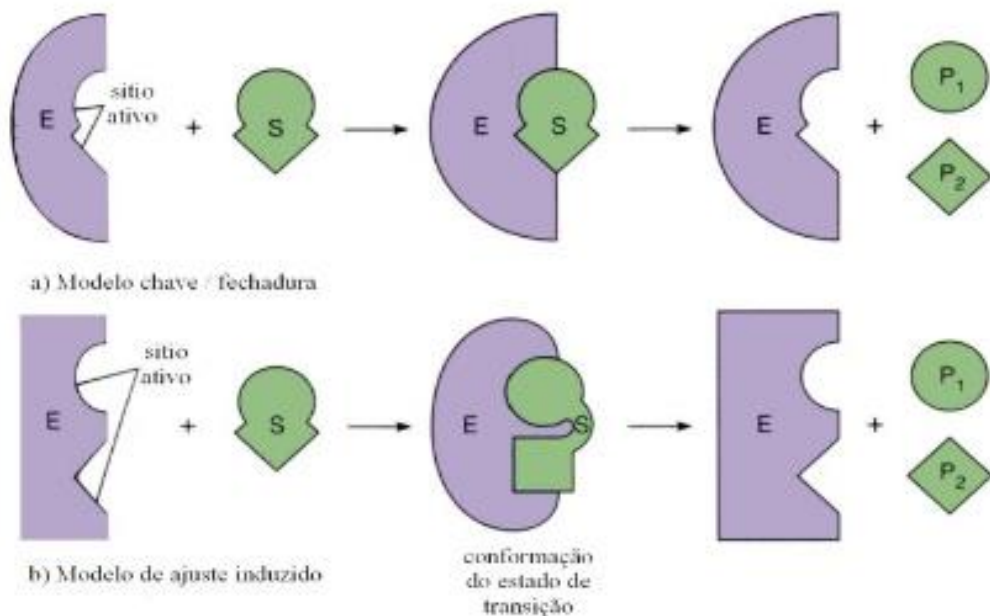
Esta é, portanto, a região da enzima que contém resíduos de aminoácidos capazes de interagir com o substrato. É nesse sítio, também, que estão os resíduos de aminoácidos que diretamente participam da ruptura e estabelecimento de ligações químicas que resultam na formação do produto (LUIELE, p.1, sd).

As enzimas são altamente específicas quanto ao tipo de reação que atuam e aos substratos, cada enzima possui uma organização estrutural específica, que permite a ela realizar ligações somente com seus substratos. (GRIS, 2011). As mesmas não são consumidas na reação, logo não alteram o equilíbrio químico da mesma.

Por serem altamente específicas, as enzimas só atuam em temperatura, pressão e pH favoráveis, caso contrário ela poderá ser desnaturada e perder sua função catalítica. A maioria das enzimas apresenta melhor desempenho em temperaturas que variam de 30 °C a 70 °C e com valores de pH próximos à neutralidade (pH \cong 7). (ENZIMAS..., sd, p.23).

Para explicar a especificidade das enzimas Emil Fischer formulou o modelo chave-fechadura. Onde a chave, neste caso o substrato, deve-se ajustar à fechadura, no caso a enzima, de modo que cada enzima aja sobre um número muito limitado de compostos (ENZIMAS..., sd, p.23). Esse modelo, disposto na Figura 4, possui falhas, o que levou a criação de um novo modelo para explicar tal acontecimento, este modelo é conhecido como encaixe induzido, foi proposto por Koshland e colaboradores em 1958, o mesmo afirma que a aproximação e a ligação do substrato induz na enzima uma mudança conformacional, tornando-a ideal para a catálise (NELSON, 2014).

Figura 4. Representação do modelo (a) chave fechadura e (b) encaixe induzido.



Fonte: GALLO

Atualmente estima-se que das 25.000 enzimas presentes na natureza, cerca de 2.800 foram classificadas e perto de 400 são isoladas e comercializadas na forma pura (VESCOVI, 2012, apud JOÃO; ZANELLA, 2000).

Segundo VESCOVI (2012) o nome da enzima provém do tipo de reação que ela irá catalisar. Estas são divididas pela União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (UIBBM) em seis grupos: oxidoredutase, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases, as quais apresentam ainda subdivisões, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Classes de enzimas e suas características

Nº	Classe	Tipo de reação	Exemplos
1	oxidorreduções	transferência de elétrons (íons hidretos ou átomos de H)	Lactato desidrogenase
2	transferases	reações de transferência de grupos	alanina aminotransferase
3	hidrolases	reações de hidrólise (transferência de grupos funcionais para a água)	quimiotripsina, lipases
4	liases	adição de grupos às duplas ligações ou formação de duplas ligações por meio de remoção e grupos	piruvato descarboxilase
5	isomerases	transferência de grupos dentro da mesma molécula para formar isômeros	alanina racemase
6	ligases	formação de ligações do tipo C-C, C-S, C-O e C-N por meio de reações de condensação, acopladas a quebra do ATP	glutamina sintetase

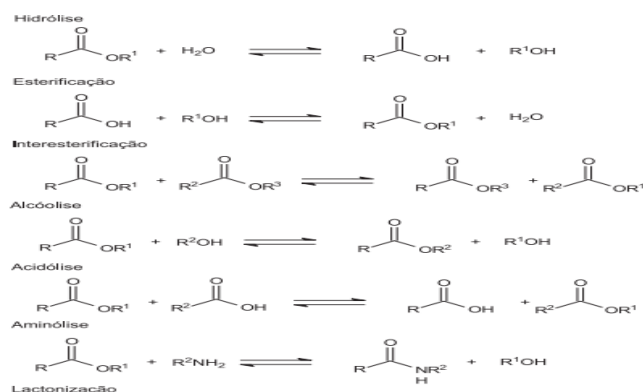
Fonte: https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/96662/Daiane_Gris.pdf?sequence=1

De acordo com o autor Ledra (2009), 5 dos 6 grupos de enzimas são utilizados em química orgânica, e entre eles o grupo das hidrolases se destacam e são as mais utilizadas, um exemplo de sua aplicação nas indústrias se dá as reações de esterificação utilizando lipases.

7.2.2 Lipases

As lipases são biocatalisadores classificados como hidrolases, enzimas que promovem cisão em materiais orgânicos através da utilização de água, sendo provenientes de fontes animais (pancreática, hepática e gástrica), microbianas (podendo ser produzidas através da fermentação por diversos fungos e bactérias) e de origem vegetal (grãos, frutas, caule, sementes e plantas que possuem látex), sofrendo variações em suas propriedades catalíticas (MUKHERJEE & WOOLEY, 1994 apud. PAQUES & MACEDO, 2006).

Estas enzimas são responsáveis por catalisar reações de hidrólise de óleos em ácidos graxos livres, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e glicerol. De acordo com a Figura 5, além da hidrólise, as lipases catalisam reações opostas, como a esterificação e a transesterificação que, segundo Delgado (2014), atuam em condições controladas de pH, temperatura e pressão (GRIS, 2011; LEDRA, 2009; PAQUES & MACEDO 2006).

Figura 5. Reações catalisadas por lipases

Fonte:Quimicanova.s bq.org.br

De acordo com Faber 2000 apud PAQUES & MACEDO, as lipases são divididas em três classes, de acordo a classificação das enzimas:

1. Regiosseletivas: nesta classe, as enzimas promovem a formação de um isômero estrutural, compostos distintos que apresentam mesma fórmula molecular, tornando-se favorecidos em detrimento de outro (APPELT, 2010).
2. Tipo-seletivas: as lipases dessa classe possuem seletividade quanto ao tamanho da cadeia carbônica e/ou ao número de insaturação do grupo acila (PAQUES & MACEDO 2006 apud FABER 2000).
3. Enantiosseletivas: esta classe, também denominada de síntese quiral ou estereosseletiva, caracteriza-se pela possibilidade de formação de dois enantiômeros - isômeros espaciais não sobreponíveis - de um mesmo composto (APPELT, 2010).

No que se diz respeito à indústria, de acordo com Messias et al 2011, a fonte de lipase mais explorada pelas mesmas têm sido os microrganismos. Dentre os processos bioquímicos presentes na literatura, as lipases representam cerca de 35% das enzimas empregadas (PAQUES & MACEDO 2006), tal que:

Pelo menos 75% de todas as enzimas industrializadas são hidrolases e destas, 90% são produzidas por micro-organismos através de processos fermentativos. Depois das proteases e carboidrases, as lipases constituem o terceiro maior grupo em vendas no mundo (JAEGER et al., 1997, SHARMA; CHISTI; BANERJEE, 2001 apud MESSIAS et al., 2011).

Entretanto, apesar da variedade de lipases microbianas, devido ao fato das mesmas apresentarem elevados custos de produção, o uso dessas enzimas em escala industrial é escasso (PAQUES & MACEDO 2006).

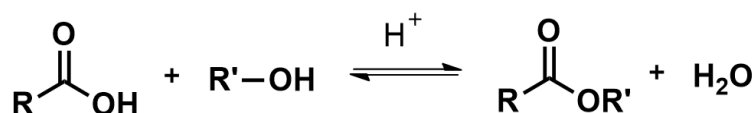
As lipases vegetais não necessitam de um alto grau de purificação, sendo assim, apresentam baixo custo de produção, além de possuírem especificidade e seletividade elevadas - em alguns casos se mostram similares às lipases microbianas - e são acessíveis devido ao fato de estarem disponíveis no mercado como enzimas proteolíticas brutas (GIORDANI & VERGER, 1991 apud PAQUES & MACEDO, 2006).

Atualmente as lipases são utilizadas na fabricação de detergentes, na área de fármacos, biodiesel, assim como na indústria de óleos, alimentos, ésteres de aroma, entre outros.

7.3 Ésteres

Os ésteres são compostos derivados de ácidos carboxílicos, ou seja, a substituição das hidroxilas ligadas a uma carbonila por um radical orgânico OR', proveniente de um álcool, durante uma reação conhecida como esterificação, como mostra a Figura 6.

Figura 6. Reação geral de esterificação



Fonte: Elaborada pelo grupo.

Os ésteres de aroma são apolares onde, a variação da massa molecular determina algumas de suas características físicas, tais como: aroma, solubilidade, ponto de ebulição e estado físico (ROCHA, 1999).

Os ésteres de massa molecular baixas são líquidos, possuem aroma agradável, são incolores e voláteis, sendo utilizados na indústria de perfumes e essências artificiais (ROCHA, 1999).

À proporção que a massa molecular aumenta, os ésteres tornam-se viscosos, como é o exemplo dos óleos vegetais e animais. Já os de massa molecular muito elevada são sólidos - gorduras e ceras- (ROCHA, 1999).

7.4 Métodos de obtenção

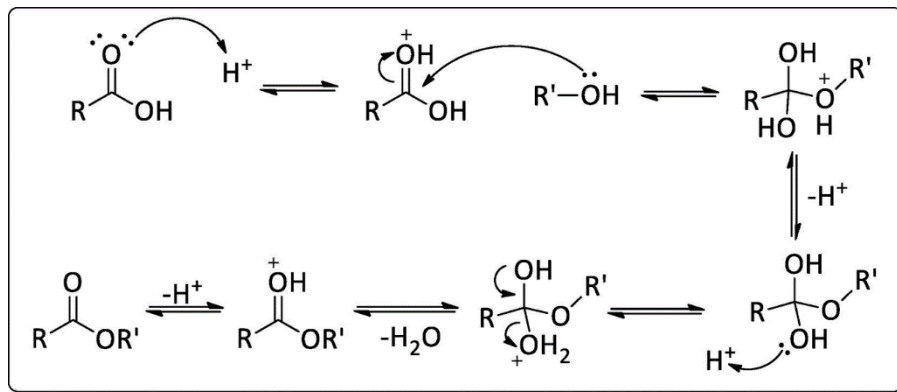
Os ésteres podem ser obtidos a partir de diferentes compostos e reações. Dentre eles destacam-se: as reações envolvendo anidridos; haletos de acila com metóxido ou etóxido de sódio; cetenas e álcoois; ácidos carboxílicos e álcoois; anidridos com éteres e AlCl_3 , FeX_3 ou BX_3 (sendo X um haleto); e também a reação de Baeyer-Villiger, utilizada para preparar o acetato de fenila (BARBOZA & ALMEIDA, 2004).

A reação de haletos de acila com metóxido ou etóxido de sódio promove a formação de determinados ésteres de aroma, sendo comumente utilizada para a formação de ésteres metílicos e/ou etílicos com alto rendimento. Já as reações de brometo de acila com álcoois promovem a formação de ésteres de aroma na presença de soluções alcalinas (BARBOZA & ALMEIDA, 2004).

As reações de cetenas com álcoois correspondem a formação de ésteres de aroma, quando à temperatura ambiente. Contudo, o processo mais econômico para obter ésteres em laboratórios se dá pelas reações realizadas em meio ácido, que consistem em reações entre de ácidos carboxílicos com álcoois (BARBOZA & ALMEIDA, 2004).

7.4.1 Esterificação de Fischer

O método mais utilizado para a obtenção de ésteres de aroma é através de reações entre o aquecimento de ácidos carboxílicos e álcoois, nos quais os produtos finais gerados são ésteres e água. Essa reação é conhecida como esterificação de Fischer, sendo catalisada em meio ácido, conforme a Figura 7.

Figura 7. Reação de esterificação.

Fonte: Revista Educación Química, p. 322

Esses compostos são utilizados principalmente na indústria alimentícia como flavorizantes, ou seja, substâncias que proporcionam aos alimentos sabor e aroma característicos, além de serem utilizados em outros setores da indústria como o de cosméticos, produtos de limpeza e fármacos.

7.5 Esterificação enzimática

As reações enzimáticas em meio orgânico têm despertado interesse industrial por consequência das vantagens na obtenção de produtos puros devido à especificidade das enzimas utilizadas nas reações, que proporcionam a redução de gastos energéticos e possibilitam práticas menos agressivas no decorrer das reações. Ademais, a utilização de biocatalisadores permitem a redução dos custos de separação, purificação e tratamento de resíduos, devido à especificidade das enzimas utilizadas para a formação dos produtos (TSUKAMOTO, 2006).

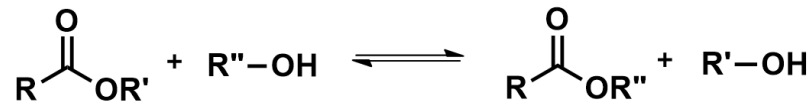
O uso de enzimas em reações de esterificação são uma alternativa viável à síntese orgânica e, por consequência das preocupações sustentáveis e ambientais durante as reações químicas, podem ser relacionadas ao conceito 'biotecnologia industrial'. Esses processos permitem a exploração de materiais renováveis para a obtenção de produtos industriais e, por consequência, diminuem a degradação ambiental (TSUKAMOTO, 2006).

A síntese enzimática envolvendo lipases é um processo alternativo para a produção de ésteres, proporcionando maiores rendimentos nas reações com temperaturas próximas à ambiente, que propiciam a obtenção de produtos com qualidade superior, economia de energia e reduzem a ocorrência de subprodutos. Estas vantagens variam de acordo com a metodologia e enzimas aplicadas (ROSU et al. 1997).

7.6 Transesterificação

A transesterificação, também conhecida como alcoólise, é um termo geral que consiste na descrição de uma classe de reações orgânicas nas quais ésteres são transformados em outros a partir da troca de seus grupos alcóxidos ($R-O$), de acordo com a Figura 8 (GARCIA, 2006).

Figura 8. Reação geral de transesterificação.



Fonte: Elaborada pelo grupo.

Nessas sínteses, o emprego de catalisadores como os ácidos e bases de Brønsted-Lowry são comuns e modificam-se de acordo com o produto que se deseja formar. A presença de catalisadores básicos, por exemplo, requer a utilização de matérias-primas puras, pois se as mesmas possuírem um teor elevado de ácidos graxos livres, estes poderão reagir com o catalisador e ocasionar o processo de saponificação, provocando emulsões que dificultam o processo de purificação dos produtos finais e o consumo do catalisador. A presença de água na reação, também pode promover este processo, pois ela pode hidrolisar os ésteres presentes no meio reacional e ocasionar a formação de ácidos graxos livres. Entretanto, a catálise enzimática e o uso de lipases podem atuar como uma alternativa eficiente às reações de transesterificação (MENEGETTI et al., 2013).

Observada sua versatilidade, a transesterificação é utilizada em diversos processos industriais, dos quais se destacam: a obtenção do tereftalato de polietileno (PET); resinas alquídicas (polímeros utilizados na indústria de tintas); glicerólise de óleos ou gorduras (processo que gera surfactantes utilizados nas indústrias farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos, além de emulsificantes e agentes texturizadores); e a produção de biodiesel, caracterizado por ser um éster metílico ou etílico (MENEGETTI et al. 2013).

7.7 Biodiesel

O biodiesel é um combustível utilizado como substituto total ou parcial do óleo diesel proveniente de fontes minerais como o petróleo, obtido através de biomassas, ou seja, matéria orgânica de origem animal ou vegetal que auxiliam na produção de energia, caracterizando-o como um combustível biodegradável. (Lei nº 11.097, de 13 de setembro de 2005).

Por ser originário de biomassas, o biodiesel é considerado menos poluente e uma fonte de combustível renovável. Possui características divergentes do diesel, “subproduto do petróleo processado em refinarias, pois é um éster gerado a partir da reação de um ácido, geralmente orgânico, com um álcool, enquanto o diesel é uma n-parafina (ou Normal-Parafina)”. (EMBRAPA INFORMÁTICA AGROPECUÁRIA, 2007).

De acordo com a Lei nº 11.097, de 13 de setembro de 2005, que rege a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, o biodiesel é :

[...] um biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (NR).

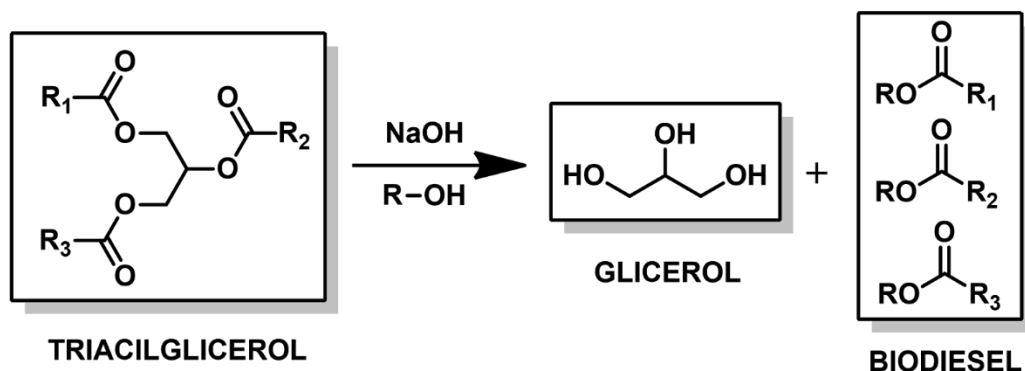
Em 2014, a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) fez uma Resolução a respeito da especificação do biodiesel, definindo-o através do Art. 2º como “combustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e/ou esterificação de matérias graxas, de gordura de origem vegetal ou animal”.

Os monoésteres alquílicos de ácidos graxos, ou seja, o biodiesel, podem ser obtidos através de reações de hidroesterificação, porém, a maneira mais comum de produzi-los no Brasil é através da técnica de transesterificação, que transforma triacilglicerídeos provenientes de óleos vegetais e gorduras animais juntamente com alcoóis de cadeia curta em biodiesel (MENEGHETTI et al., 2013).

A transesterificação, reação de formação de ésteres e álcoois diferentes dos iniciais, ocorrem na presença de catalisadores, como as lipases. A síntese do biodiesel através da transesterificação enzimática promove a recuperação do catalisador, eliminando os problemas de separação, o índice de acidez e o teor de sódio presentes nos métodos convencionais (URIESTE & CASTRO, ANO).

Particularmente, os triacilglicerídeos, ou triacilgliceróis, são triésteres compostos por glicerol, que, quando utilizados álcoois para a reação de transesterificação, resultam nos produtos glicerol e biodiesel, de acordo com a Figura 9. Seu ponto de fusão depende do número de insaturações de seus ácidos graxos. Os triacilglicerídeos líquidos a temperatura ambiente são denominados óleos e os sólidos ou pastosos, gorduras, onde há a predominância de ácidos graxos saturados (GARCIA, 2006).

Figura 9. Processo de transesterificação para formação de biodiesel



Fonte: Elaborada pelo grupo.

Segundo Meneghetti et al. (2013), outra alternativa para a produção de biodiesel é a utilização de resíduos ricos em triacilglicerídeos como os óleos de fritura e resíduos industriais ou urbanos, apresentando-se mais sustentável e de menor impacto ambiental.

Segundo Encarnação (2008), em 2000, o petróleo se estabilizou temporariamente com um preço relativamente alto no mercado internacional e, assim, as fontes de energias renováveis assumiram papel mais importante na matriz energética mundial com técnicas mais avançadas e preocupadas com a sustentabilidade ambiental.

Em 2004, foi lançado o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), para implementar de forma sustentável, técnica e economicamente, a produção e uso do biodiesel (MENEGHETTI et. al, 2013). Em 2005, através do Artigo 2º da Lei nº 11.097, de 13.01.2005, o biodiesel foi introduzido na matriz energética brasileira, fixando em 5% o percentual mínimo obrigatório de adição de biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final (ENCARNAÇÃO, 2008).

Estudos realizados na Bahia a partir do óleo de dendê revelaram um bom desempenho da cadeia produtiva local. Porém, o processo de transesterificação exige que a usina de extração de óleo vegetal seja localizada próximo à região produtora,

sendo que o processo de hidroesterificação não apresenta essa limitação (LEIRAS et al, 2006, apud ENCARNAÇÃO, 2008).

7.8 Ésteres e a indústria

Os ésteres em geral possuem envolvimento na indústria, tanto nos setores têxteis, alimentícios, fármacos, poliméricos, cosméticos e combustíveis.

Especificando-se nas características dos produtos alimentícios, existem alguns fatores que levam à adquirirmos um produto, tais como sabor, aparência, cor, textura e aroma, tornando-se decisivos para a aquisição dos produtos pelos consumidores (SIMÕES, 2009 et al, apud SACHDEVA et al, 1995).

O fator que se destaca e influencia os consumidores é o aroma. A importância pelo aroma do alimento também atingiu culturas de outros povos, como exemplos, os gregos e romanos, que optaram pelo aroma agradável em suas bebidas, como o vinho. Os ingredientes mais utilizados eram ervas, rosas e violetas (CHIAPPINI, 2007 apud SIMÕES et al, 2009).

No decorrer do século XIX, os aromas como vanilina, componente da essência da baunilha, dentre outros aromas foram sintetizados e utilizados nos produtos devido os avanços na química (CHIAPPINI, 2007 apud SIMÕES et al, 2009).

Em bebidas alcoólicas, por exemplo, os compostos voláteis são responsáveis pelo aroma que pode ser rapidamente perceptível. Conforme Garruti "em bebidas alcoólicas alguns desses compostos têm origem no próprio fruto, outros são gerados durante o processo fermentativo e outros são provenientes de reações químicas durante o envelhecimento" (GARRUTI, 2001 apud SIMÕES et al, 2009).

Os ésteres mais comuns nos produtos consumidos estão listados na Figura 10, esses podem ser utilizados em bebidas, bebidas alcoólicas, pudins, gelatinas, chicletes, balas, entre outros.

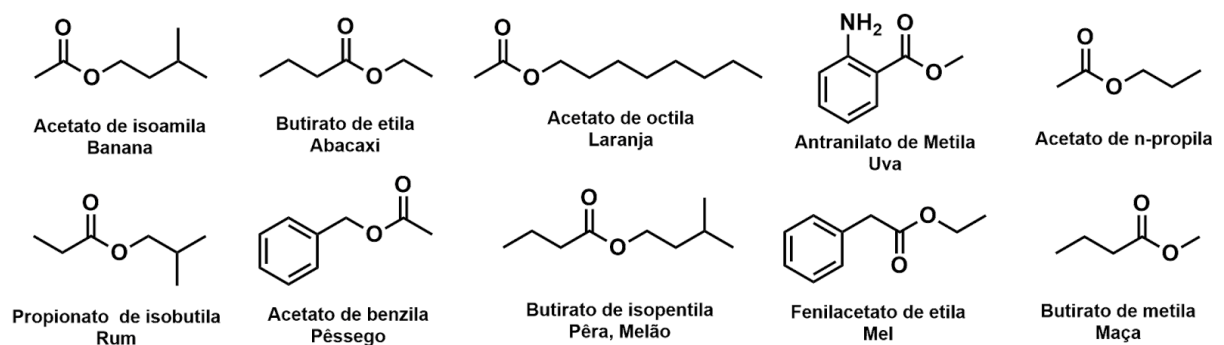


Figura 10. Estrutura química de algumas moléculas responsáveis pelo sabor e fragrância de alimentos. Fonte: Elaborada pelos autores baseada em MEDEIROS, 2008.

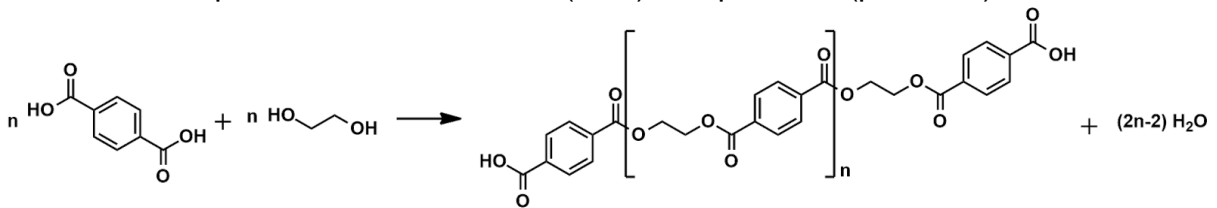
Sendo assim, nota-se que esse costume de aromatizar os próprios alimentos, os tornam mais agradáveis para o consumo. E o composto que se destaca na produção desses aromas característicos de cada alimento ou bebidas são os ésteres (SIMÕES 2009 et al, apud MARQUES e PASTORE, 1999).

Na indústria de cosméticos, especificamente no segmento de perfumes, os ésteres encontram-se em perfumes mais suaves, isto é, aqueles que duram por um curto intervalo de tempo. Os perfumes mais concentrados, à base de óleos essenciais e que permanecem no corpo por mais tempo não possuem em sua composição o éster, o mesmo não é estável em contato com a transpiração. Essa ausência ocorre, pois em contato com o suor, os ésteres se hidrolisam, então, acabam formando ácidos orgânicos, estes não possuem odores agradáveis (PAVIA et al, 2009, PG. 87).

A utilização dos ésteres não se delimita apenas em fragrâncias de determinado produto, mas também em materiais comuns no nosso dia-a-dia, como polímeros, ou seja, garrafas plásticas.

Nos polímeros sintéticos - macromoléculas formadas por unidades monoméricas repetidas, neste caso artificialmente - como os poliésteres, que possuem vários grupos de ésteres. O poliéster mais importante é o poli(tereftalato de etileno), PET, devido ao seu alto índice de reciclagem, representado na Figura 11. No ramo da indústria têxtil, destaca-se o nylon, no qual ocorre a reação de um ácido com uma amina para a formação do mesmo (SPINACÉ, 2005).

Figura 11. Reação do ácido tereftálico com o etilenoglicol formando o politereftalato de etileno (PET), um poliéster (polímero).



Fonte: Elaborada pelo grupo, adaptada de WAN et al, 2001.

De modo geral, um grande vilão do meio ambiente é o próprio polímero, como o PET e o nylon, citados anteriormente. Isso ocorre devido ao longo tempo em que ambos levam para se degradar. Para diminuir esse problema, uma alternativa é a reciclagem, dessa forma, houve uma melhora nas técnicas e processos baseados no princípio de reutilização desses materiais. Especificando-se no poli(tereftalato de etileno), com a reciclagem ele também pode ser utilizado em fibra têxtil, embalagens, resinas insaturadas, mantas de não tecido, cordas, cerdas de vassouras e escovas, entre outros (SPINACÉ et al, 2005).

Na indústria de fármacos, encontram-se os ésteres no polímero sintético denominado (PAA) – polí(ácido acrílico). Alguns produtos que contém o PPA são: os que possuem a função de prevenir a acne e linhas de expressão, os anti-inflamatórios, entre outros. Os ésteres estão presentes no revestimento do fármaco, que possui a função de proteger o estômago e disfarçar odores do mesmo, alguns deles são: o metacrilato de butila (BMA) e metacrilato de metila (MMA). Além disso, os ésteres encontram-se nos poliésteres alifáticos, um tipo de polímero com cadeias abertas de moléculas, sendo o poli(hidroxibutirato) (PHB), esse é usado em medicamentos, com a função de prolongar o fármaco no organismo (VILLANOVA et al, 2009).

Especificamente na indústria de combustíveis, o biodiesel é utilizado como fonte alternativa aos motores ciclo diesel - motores de combustão interna de ignição por compressão-. Este é utilizado para diversos fins, tais como: combustíveis para caminhões, ônibus, automóveis; e possuem aplicações voltadas à geração de energia e calor (OLIVEIRA et al, 2007).

O biodiesel é uma alternativa para melhorar os problemas ambientais pois, diminui a quantidade de dióxido de carbono (CO₂) e enxofre (SO₂) na atmosfera. Como exemplo dos impactos ambientais, destacam-se o efeito estufa e a chuva ácida, pois o dióxido de carbono liberado pelos veículos que utilizam combustíveis derivados do petróleo -diesel- aumentam a concentração de CO₂ na atmosfera e propiciam a formação de (SO₂), que reage com oxigênio (O₂) e água formando ácido sulfúrico (H₂SO₄), provocando a chuva ácida. Em contrapartida, o uso de biomassa, assim como o biodiesel, permite a reabsorção desse gás liberado, estabelecendo um ciclo

quase fechado do carbono, pois em alguns casos, há a utilização de combustíveis fósseis em determinadas etapas da produção, tais como no transporte dos produtos (OLIVEIRA et al, 2007).

Dessa forma, o biodiesel diminui os impactos ambientais dos ciclos curtos do carbono e enxofre atmosféricos, que são estimados entre 78% e 100%, provocados pelo uso de motores de combustão interna, sendo reduzidas as emissões de outros poluentes.

“Estudos realizados pela Agência de Proteção Ambiental Americana comprovam que a substituição total do diesel pelo biodiesel tem como resultado a diminuição das emissões na ordem de 48% de monóxido de carbono, 67% de hidrocarbonetos não-queimados e 47% de material particulado (Biodiesel, 2006)” (OLIVEIRA et al, 2007, pg.7).

Portanto, entende-se que os ésteres em geral possuem aplicações variadas em diferentes ramos da indústria.

7.9 Métodos atuais de purificação e caracterização de ésteres

Existem vários métodos de purificação de ésteres, sendo alguns deles: recristalização, filtração, sublimação, destilação, solubilidade e extração por solvente.

7.9.1 Destilação simples

A destilação simples é baseada na evaporação, resfriamento, condensação e coleta do condensado em outro recipiente, segundo Zaccaria *et al* (2009), sua utilização se dá para a purificação de líquidos com impurezas voláteis e para a separação de misturas cujos componentes apresentam pontos de ebulição bem diferenciados. Essa técnica está presente na indústria de bebidas, nas refinarias de petróleo para obtenção de combustíveis e na indústria de cosméticos e perfumarias para a obtenção de flavorizantes, como os ésteres de aroma.

7.9.2 Extração por solvente

A extração por solvente é uma técnica de purificação, que se dá pela transferência de um soluto de um solvente para outro. Os dois solventes devem ser imiscíveis, de forma que o soluto passa de um solvente para o outro por ter maior solubilidade no segundo, formando um sistema de duas fases (PAVIA *et al*, 2009). Normalmente, adiciona-se no sistema água e um solvente orgânico. Devido ao fato da maioria dos ésteres serem apolares, terão maior afinidade com a fase orgânica e, por sua vez, os subprodutos com a fase aquosa.

7.9.3 Índice de refração

Segundo o autor Vogel (1989) o índice de refração de um líquido é uma importante propriedade física, frequentemente utilizado junto com o ponto de ebulição, a fim de caracterizar uma substância orgânica. De acordo com Pavia *et al* (2009) o índice de refração depende de duas variáveis: a temperatura, pois como a densidade varia de acordo com a mesma, a velocidade da luz nessa substância também mudará; o comprimento de onda, pois num feixe de luz, diferentes comprimentos de onda

levam em diferentes índices de refração. Por isso, utiliza-se esta técnica em 20° C.

Cada éster, assim como outras substâncias, possui um índice de refração característico, o que permite identificar a pureza da amostra analisada através da comparação com dados encontrados na literatura. Porém, é possível que duas substâncias distintas tenham um mesmo índice de refração, sendo assim, torna-se necessário, também, o conhecimento do ponto de ebulição da mesma.

7.9.4 Cromatografia de camada delgada

A cromatografia de camada delgada é uma técnica que consiste na separação de misturas. A mesma, está relacionada com a polaridade dos compostos, que decorrerá em interações diferentes dos compostos de uma mistura com a fase estacionária e fase móvel, presentes em uma cuba cromatográfica. De acordo com as autoras Marques e Borges (2012), um composto adicionado a um sistema de duas fases terá maior afinidade por uma, logo, o percurso total percorrido pelo mesmo será diferente do percurso percorrido pela fase móvel. Este, é um método simples, visual e econômico, além de ser a técnica predominantemente escolhida para acompanhamento de reações orgânicas, sendo possível identificar o término da mesma e se houve formação de um subproduto. (DEGANI *et al*; 1998).

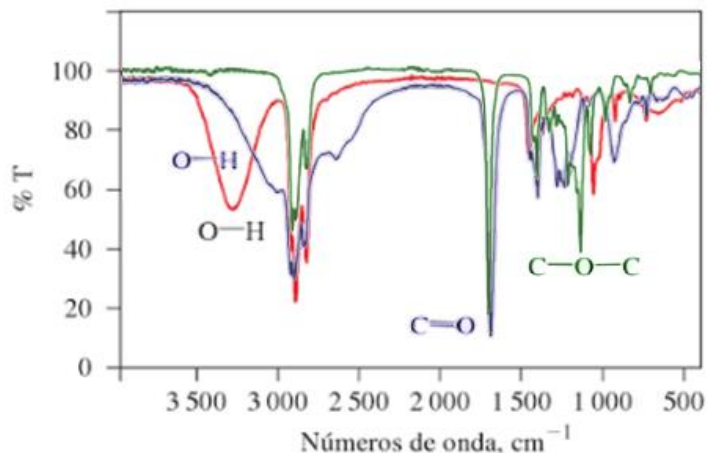
7.9.5 Espectroscopia de infravermelho

De acordo com Bruice (2006) e Haack (2010), a espectroscopia de infravermelho permite a determinação dos grupamentos funcionais que uma substância possui, através das vibrações dos átomos presente nas moléculas da mesma. Uma ligação vibra tanto com movimentos axiais quanto angulares, e podem ser simétricas ou assimétricas. Para que ocorra absorção da radiação infravermelha (IV) é necessário que haja variação no momento dipolo da molécula como consequência de seu movimento vibracional, deste modo, o campo elétrico alternante da radiação interage com a molécula e origina os espectros (LUZ, 2003).

O infravermelho pode ser utilizado na análise quantitativa de misturas dos compostos, pois a intensidade de uma banda de absorção é proporcional a concentração do componente que ocasionou na mesma. É também utilizado na caracterização de compostos e até mesmo no monitoramento de reações, como o trabalho realizado por Blanco e Serrano (2000), que visava acompanhar a esterificação em tempo real do n-butanol com ácido acético, catalisada por ácido sulfúrico, e determinação de parâmetros cinéticos.

Os ésteres são sintetizados a partir da reação de um ácido carboxílico e um álcool. De acordo com Carey (2011) o espectro de um ácido carboxílico possui duas absorções características: uma banda larga na ligação C-H e uma banda forte no estiramento da ligação C=O, enquanto os álcoois possuem uma banda larga característico dos grupos OH com ligações de hidrogênio. Já os ésteres possuem uma forte absorção de C=O (carbonila), bandas de estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-O-C, e ligações C-C. Além disso, possuem outras absorções que será característico de cada éster. Ao término da reação, o produto gerado deve possuir um espectro diferentes dos espectros iniciais. Na Figura 12 é possível observar o espectro IV característico do álcool, ácido carboxílico e éster.

Figura 12. Espectro de infravermelho de um álcool (vermelho), de um ácido carboxílico (azul) e de um éster (verde).



Fonte: Elaborada pelo grupo, adaptada de (Carey, 2009).

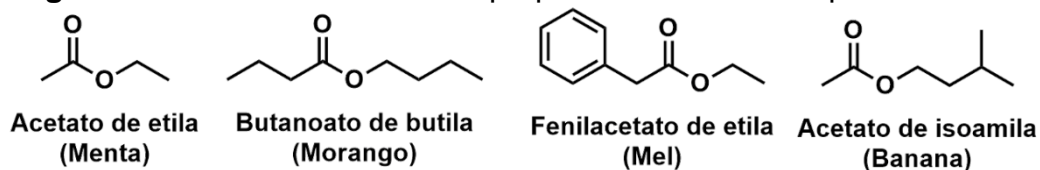
8 METODOLOGIA

A metodologia proposta consiste na produção de quatro ésteres de aroma, sendo eles o de acetato de etila, butanoato de butila, fenilacetato de etila e acetato de isoamila com o aroma característico, respectivamente de menta, morango, mel e banana, além da transesterificação para a formação do biodiesel através do óleo de soja.

8.1 Síntese dos ésteres

Os ésteres de aroma foram propostos com base na disponibilidade de reagentes no laboratório e também ao aroma característico dos mesmos, e suas estruturas podem ser observadas na Figura 13.

Figura 13. Estrutura dos ésteres propostos com seus respectivos aromas.



Fonte: Elaborada pelo grupo.

Os ésteres serão formados a partir da mistura dos respectivos ácidos carboxílicos e álcoois em um erlenmeyer, adicionando quantidades variáveis da planta *Euphorbia Tirucalli*, cortada perpendicularmente em aproximadamente 1 centímetro. Esta por sua vez, substituirá o catalisador ácido, comumente utilizado nessas reações. A mistura final será mantida sob agitação orbital em temperatura constante até que a reação seja finalizada.

8.2 Síntese do biodiesel

A transesterificação para o processo de formação do biodiesel será realizada através do método convencional, no qual há o processo de refluxo, sistema onde

ocorre a recuperação do solvente através do acoplamento de um condensador por onde escoar um fluxo de água, permitindo que o mesmo retorne à solução inicial. Este método consiste em uma reação na qual há a presença do óleo vegetal, neste caso o óleo de soja comercial, em meio básico para a formação de glicerol e biodiesel. Para esse processo, utilizar-se-á, igualmente ao método de esterificação, a lipase presente no látex da planta Aveloz como catalisador, substituindo o catalisador básico, e sem alta temperatura, uma vez que pode desnaturar a enzima.

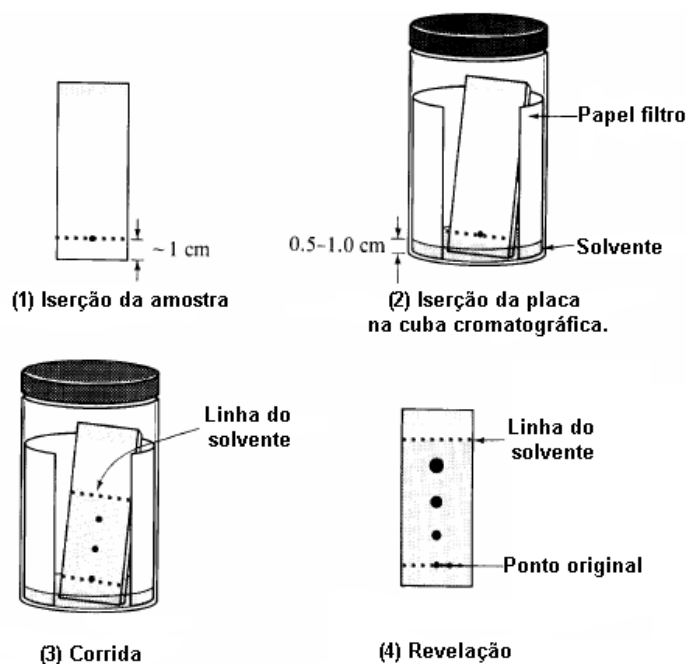
A verificação do produto obtido através da transesterificação se dará de maneira qualitativa pelo teste de chama do mesmo, onde será confirmada a presença do biodiesel se o produto gerar uma pequena ignição.

8.3 Avaliação da atividade catalítica

Para avaliar a atividade catalítica dos ésteres, serão analisados alguns fatores, sendo eles a temperatura, agitação e pH constantes, sendo variável apenas a quantidade de catalisador utilizado. O pH será mantido em aproximadamente 7 com uma solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M.

Com o objetivo de acompanhar a atividade catalítica, a síntese e a formação do produto final da esterificação será utilizada a cromatografia de camada delgada. Será feita uma placa com os reagentes iniciais e de tempo em tempo uma alíquota da reação, comparando os R_fs (fator de retenção) será possível identificar o término da reação e se houve formação de um subproduto na mesma. O processo descrito pode ser observado na Figura 14.

Figura 14. Representação das etapas de cromatografia em camada delgada



Fonte: Apostila de química orgânica experimental da UFSC adaptada pelos autores.

Após o acompanhamento da reação por CCD, o produto final será purificado através da técnica de destilação simples, obtendo o ponto de ebulição dos ésteres, ou extração por solvente, dependendo da especificidade de cada um.

8.4 Caracterização

Para caracterização dos produtos da esterificação faremos análises no aparelho de espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR - ATR), modelo Perkin Elmer Spectrum Two, disponibilizado pelo IFSC - Instituto Federal de Santa Catarina, campus Geraldo Werninghaus, utilizando aproximadamente uma gota da amostra. As principais bandas analisadas para a identificação dos ésteres serão: estiramento C=O de carbonila C=O, bandas de estiramento simétrico e assimétrico de ligações C-O-C, e ligações C-C. Além do mesmo, será utilizado o refratômetro portátil disponível no campus Jaraguá do Sul - Centro (MODELO TAL), será utilizada cerca de 1 à 2 mL de amostra, e este apresentará uma leitura de valor característico da substância, tornando possível a caracterização dos produtos através de comparação com o valor encontrado na literatura. Devido ao fato de duas substâncias distintas possuírem o mesmo índice de refração, o ponto de ebulição também será levado em consideração na análise.

Após a obtenção dos dados das caracterizações, os mesmos serão comparados com os dados obtidos na literatura, encontradas em *sites* como NIST Atomic Spectra Database Lines Form e Sigma Aldrich.

9 CRONOGRAMA

Atividades a Serem Realizadas	Fevereiro	Março	Abril	Maior	Junho
Revisão Bibliográfica	X	X	X	X	
Realização das sínteses	X	X	X		
Purificação		X	X		
Caracterização			X	X	
Análise dos resultados		X	X	X	
Escrita do relatório			X	X	
Elaboração do Banner				X	
Entrega do relatório					X
Apresentação Final					X

10 REFERÊNCIAS

- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Resolução ANP nº 42 de 24/11/2004**. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/>>. Acesso em: 12/10/2016.
- APPELT, Helmoz. **Introdução à Química Orgânica**. 2010. Disponível em: <<http://www.qmclink.com>>. Acesso em: 09 nov. 2016.
- BRASIL. Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005. **Dispõe Sobre A Introdução do Biodiesel na Matriz Energética Brasileira; Altera As Leis nos 9.478, de 6 de Agosto de 1997, 9.847, de 26 de Outubro de 1999 e 10.636, de 30 de Dezembro de 2002; e Dá Outras Providências**. Brasília, Disponível em: <https://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm>. Acesso em: 27 nov. 2016.
- BRUICE, Paula Yurkanis. **Química Orgânica**. 4. ed. São Paulo: Pearson Prentice Hall, 2006. 590 p.
- CAREY, Francis A.. **Química orgânica: volume 1**. 7. ed. Porto Alegre: Editora Afiliada, 2011. 764 p.
- CARNEIRO, Manuel Sérgio de Sá. **INTRODUÇÃO À QUÍMICA ORGÂNICA**. 2010. Disponível em: <http://educa.fc.up.pt/ficheiros/noticias/70/documentos/107/introducao_quimica_organica.pdf> . Acesso em: 01/11/2016.
- COSTA, Luciana Sobrinha. **ESTUDO DO USO DO AVELOZ (*Euphorbia tirucalli*) NO TRATAMENTO DE DOENÇAS HUMANAS: UMA REVISÃO**. 2011. Disponível em: <<http://dspace.bc.uepb.edu.br/jspui/bitstream/123456789/194/1/PDF%20-%20Luciana%20Sobrinha%20Costa.pdf>>. Acesso em: 10/11/2016.
- COSTA, Thiago Santangelo. et al. **CONFIRMANDO A ESTERIFICAÇÃO DE FISCHER POR MEIO DE AROMAS**. 2004. Disponível em: <<http://qnesc.sbq.org.br/online/qnesc19/a11.pdf>>. Acesso em: 02/11/2016.
- DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. Cromatografia um breve ensaio. *Química nova na escola*, v. 7, p. 21-25, 1998.
- DELGADO, Clarissa Hamaio Okino. **OBTENÇÃO, CARACTERIZAÇÃO E APLICAÇÃO DE LIPASES VEGETAIS**. 2014. Disponível em: <<http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/108799/000770999.pdf?sequence=1>>. Acesso em: 09/11/2016.
- DEQUI EEL USP. **CAPÍTULO 3 ÉSTERES**. Disponível em: <http://www.dequi.eel.usp.br/~croa/pdf/cap3_4.pdf> . Acesso em: 01/11/2016.
- EMBRAPA INFORMÁTICA AGROPECUÁRIA. **BIOCOMBUSTÍVEIS: 50 PERGUNTAS E RESPOSTAS SOBRE ESTE NOVO MERCADO**. 2007. Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/matprima1_000g7pcetcc02wx5ok0wtedt32e6jis7.pdf> . Acesso em: 12/10/2016.
- ENCARNAÇÃO, Ana Paula Gama. **GERAÇÃO DE BODIESEL PELOS PROCESSOS DE TRANSESTERIFICAÇÃO E HIDROESTERIFICAÇÃO, UMA AVALIAÇÃO ECONÔMICA**. 2007. 164 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Universidade Federal de Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.
- ENZIMAS CATALIZADORAS DE REAÇÕES BIOLÓGICAS**. sd. Disponível em: <http://insumos.com.br/funcionais_e_nutraceuticos/materias/86.pdf> Acesso em: 24/11/2016.
- ENZIMAS**. sd. Disponível em: <http://www2.dracena.unesp.br/graduacao/arquivos/bioquimica_animal/enzimas.pdf> Acesso em: 24/11/2016.

FARIAS, Florence M. Cordeiro de. **FUNÇÕES ORGÂNICAS**. Disponível em: <http://web.ccead.puc-rio.br/condigital/mvsl/Sala%20de%20Leitura/conteudos/SL_funcoes_organicas.pdf> . Acesso em: 01/11/2016.

FIORESE, Diego Augusto. et al. **METODOLOGIA EXPERIMENTAL PARA AVALIAÇÃO DE CUSTOS DE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE BIODIESEL: ESTUDO DE CASO DE QUATRO ÉSTERES METÁLICOS E ÓLEO DIESEL COMERCIAL**. 2011. Disponível em: <<http://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/29479/S0103-84782011001100012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> . Acesso em: 12/11/2016.

GALLO, Luiz Antonio. **Bioquímica: Enzimas**. Disponível em: <<http://docentes.esalq.usp.br/luagallos/enzimas.html>>. Acesso em: 16 nov. 2016.

GARCIA, Camila Martins. **TRANSESTERIFICAÇÃO DE ÓLEOS VEGETAIS**. 2006. Disponível em: <<http://biq.iqm.unicamp.br/arquivos/teses/vtIs000386845.pdf>>. Acesso em: 09/11/2016.

GRIS, Daiane. **PREPARAÇÃO DE ÉSTERES DE AROMA CATALISADA POR LIPASES IMOBILIZADAS EM FILMES DE AMIDO/PVA**. 2010. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/96662/Daiane_Gris.pdf?sequence=1&isAllowed=y> . Acesso em: 15/10/2016.

GUZO, Maria Eduarda. et al. **AVALIAÇÃO DA POTENCIALIDADE DE APLICAÇÃO DE LIPASE COMERCIAL LIVRE EM REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO**. 2014. Disponível em: <<https://ocs.arauquari.ifc.edu.br/index.php/micti/micti2014/paper/viewFile/210/69>> . Acesso em: 19/11/2016.

HAACK, Micheli de Souza. **ANÁLISE DE MATERIAIS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO DENTRO DO SISTEMA DE GESTÃO DE QUALIDADE CONFORME ABNT NBR ISO/IEC 17025**. 2010. Disponível em: <<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/28602/000771298.pdf>> . Acesso em: 10 out. 2016.

LEDRA, Carlos Geovanni Alves. **PREPARAÇÃO DE ÉSTERES DE AROMA CATALISADA POR LIPASES IMOBILIZADAS EM FILME DE AMIDO DE BATATA**. 2009. Relatório - Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/99779/Carlos.pdf?sequence=1&isAllowed=y>> . Acesso em: 10/10/2016.

LUIELE, Maurilio Luciano. **Relação Estrutura-Função das Enzimas**. sd. Disponível em: <<http://www2.bioqmed.ufrj.br/enzimas/funcao.htm>> Acesso em: 24/11/2016.

MARQUES, Jaqueline Aparecida; BORGES, Christiane Philippini Ferreira. **Práticas de Química Orgânica**. 2. ed. Campinas: Editora Átomo, 2012.

MEDEIROS, Camila Rigoni. **OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DE ÉSTERES USADOS NA INDÚSTRIA DE SABORES E AROMAS**. 2008. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/105208/Camilla_Rigoni_Medeiros.pdf?sequence=1&isAllowed=y> . Acesso em: 15/11/2016.

MEDICINA TRADICIONAL E AS EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS. 2008. Disponível em: <http://sites.uepb.edu.br/biofar/download/v3n1-2008/O_USO_DE_EUPHORBIA_TIRUCALLI.pdf>. Acesso em: 07/11/2016.

MENEGHETTI, Simoni P. et al. **A REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO, ALGUMAS APLICAÇÕES E OBTENÇÃO DE BIODIESEL**. Revista Virtual de Química, Maceió, v. 5, n. 1, p.63-73, 06 jan. 2013. Mensal. Disponível em: <<http://sistemas.eel.usp.br/docentes/arquivos/1285870/52/ReacaodeTransterificacao.BioDiesel.pdf>>. Acesso em: 17/11/2016.

MESSIAS, Josana Maria. et al. **LIPASES MICROBIANAS: PRODUÇÃO, PROPRIEDADES E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS**. 2011. Disponível em: <<http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semexatas/article/viewFile/8297/8759>> . Acesso em: 10/11/2016.

MOTTA, Valter T.. **Introdução à bioquímica.** Disponível em: <<http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/16673/material/bioquimica-basica.pdf>>. Acesso em: 15/11/2016.

NEODINI, Daniella Nunes Rollo; GASPI, Fernanda Oliveira de Gaspari. **ANÁLISE DOS EFEITOS TÓXICOS DA AVELÓZ (*Euphorbia tirucalli* L.).** 2015. Disponível em: <http://www.uniararas.br/revistacientifica/_documentos/art.051-2015.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2016.

NETO, Pedro Ramos da Costa. **OBTENÇÃO DE ÉSTERES ALQUÍLICOS (Biodiesel) POR VIA ENZIMÁTICA A PARTIR DO ÓLEO DE SOJA.** 2002. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/83189/191338.pdf?sequence=1> Acesso em: 10/10/2016.

OLIVEIRA, Ângela Pfeifer de; NEPOMUCENO, Júlio César. **AVALIAÇÃO DOS EFEITOS GENOTÓXICOS E ANTIGENOTÓXICOS DO AVELÓS (*Euphorbia Tirucalli*) EM *Drosophila melanogaster*.** 2003. Disponível em: <<http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/6530/4264>> Acesso em: 01/11/2016.

OLIVEIRA, Flavia C.C. et al. **BIODIESEL: POSSIBILIDADES E DESAFIOS.** 2007. Disponível em: <<http://zeus.qui.ufmg.br/~qgeral/downloads/material/biodiesel.pdf>>. Acesso: 19/11/2016.

PAQUES, Fernanda Wiermann. et al. **LIPASES DE LÁTEX VEGETAIS: PROPRIEDADES E APLICAÇÕES INDUSTRIAIS.** 2006. Disponível em: <http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol29No1_93_17-RV04329.pdf>. Acesso em: 09 nov. 2016.

PAVIA, Donald L. et al. **Química Orgânica Experimental: Técnicas de escala pequena.** 2. ed. Porto Alegre: Bookman, 2009. 880 p.

ROCHA, Wagner Xavier. **ÉSTERES.** 1999. Disponível em: <<http://www.oocities.org/vienna/choir/9201/esteres.html>>. Acesso em: 09 nov. 2016.

Rosu, R.; Uozaki, Y.; Iwasaki, Y.; Yamane, T. 1997. Repeated Use of Immobilized Lipase for Monoacylglycerol Production by Solid-phase Glycerolysis of Olive Oil. *Journal of the American Oil Chemists Society.* 74(4): 445-450.

SANTANA, Adelmir. et al. **BIODIESEL.** Disponível em: <https://www.agencia.cnptia.embrapa.br/Repositorio/NT00035116_000gihb7tn102wx5ok05vadr1szzvy3n.pdf> . Acesso em: 01 nov. 2016.

SILVA, Julyetty Crystyne da. **REAÇÕES DE ACILAÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE AMINAS E ÁLCOOL ALIFÁTICOS CATALISADAS POR LIPASES.** 2015. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/134965/334385.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 10/10/2016.

SIMÕES, Deise Rosana Silva. et al. **AROMAS EM MAÇÃS, SUCO E SIDRA: REVISÃO.** 2009. <Disponível em: <http://revistas.ufpr.br/alimentos/article/viewFile/15011/10061>>. Acesso em: 10/11/2016.

SPINACÉ, Márcia Aparecida da Silva. et al. **A TECNOLOGIA DA RECICLAGEM DE POLÍMEROS.** 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/qn/v28n1/23041>> . Acesso em: 10/11/2016.

TSUKAMOTO, Junko. **ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DIRETA DE CARBOIDRATOS COM ÁCIDO ACRÍLICO EM MEIO ORGÂNICO.** Disponível em: <http://www.bibliotecadigital.unicamp.br/document/?code=vtls000396715>. Acesso em: 10/10/2016.

URIOSTE, Daniele; CASTRO, Heizir Ferreira de. **SÍNTESE DE BIODIESEL POR INTERESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE BABAÇU COM ÁLCOOIS DE CADEIA CURTA.** Disponível em: <http://oleo.ufla.br/anais_02/artigos/t122.pdf>. Acesso em: 09/11/2016.

VANIN, Adriana Biasi. **PRODUÇÃO, PROPRIEDADES BIOLÓGICAS, ANTIOXIDANTES E TOXICIDADE DO BIOAROMATIZANTE OBTIDO VIA ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE ÓLEO ESSENCIAL DO CRAVO-DA-ÍNDIA (*Caryophyllus aromaticus*)**. 2014. Disponível em: <http://www.uricer.edu.br/cursos/arq_trabalhos_usuario/back/2745.pdf> . Acesso em: 02/11/ 2016.

VARRICCHIO, M.C.B.N.; SILVA, Simone. da; GOMES, Nelson B. Noronha; KUSTER, Ricardo Machado; LAGE, Celso L. Salgueiro. **O USO DE EUPHORBIA TIRUCALLI (AVELOZ) EM**.

VESCOVI, Vinicius. **EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES VEGETAIS DESTINADAS À SÍNTESE DE BODIESEL E ÉSTERES**. 2012. Disponível em: <https://repositorio.ufscar.br/bitstream/handle/ufscar/4099/4556.pdf?sequence=1&isAllowed=y> Acesso em: 10/10/2016.

VILLANOVA, Janaina C. O. et al. **APLICAÇÕES FARMACÊUTICAS DE POLÍMEROS**. 2009. Disponível em: <<file:///C:/Users/Usu%C3%A1rio/Downloads/farmacia.pdf.pdf>>. Acesso em: 10/11/2016.

VOGEL, Arthur Israel. **Vogel's textbook of practical organic chemistry**. 5. ed. Pearson, 1989.

ZACCARIA, Bruno; CHINAGLIA, Daniella Ferreira; OLIVEIRA, Isabel de. **Destilação**. 2009. Disponível em: <<http://bizuando.com/material-apoio/ope-uni-exp2/ope-uni-exp2-trabalho-destilacao.pdf>>. Acesso em: 10/10/2016.