

ESTUDO DOS PARÂMETROS REACIONAIS NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE CRAMBE

Schmidt, Sabrina L. Bolsista PROICT ULBRA, Curso de Biomedicina.

Corrêa, Dione S. Programa de Pós-Graduação em Genética e
Toxicologia Aplicada. Curso de Química – ULBRA

A maioria das doenças perixissomais tem envolvimento neurológico. A Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X (X-ALD), uma doença genética, caracterizada pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFA), o que acarretará ao indivíduo, problemas nas glândulas adrenais, testículos e até, sistema nervoso. O óleo de Lorenzo (OL), mistura do glicerotrioleato/glicerotrierucato na proporção 4:1 é recomendado para o tratamento da X-ALD. O principal objetivo é a obtenção de ácido erúcido a partir da semente de crambe para que se possa sintetizar o trierucato de glicerol, um dos componentes do OL, pois tem ajudado para avaliação clínica do tratamento da X-ALD, que é uma doença que atinge particularmente os homens de qualquer faixa etária. O crambe é oriundo da região seca e quente da Etiópia e domesticado na região fria e seca do Mediterrâneo, o crambe (*Crambe abyssinica hochst*) é pertencente da família das crucíferas, próxima da colza, canola e mostarda. É uma planta que se adapta às variadas temperaturas e climas, suporta desde geadas típicas do sul até climas quentes e secos do centro-oeste do Brasil. O crambe tem um ciclo curto, de 85 a 95 dias, por isso é considerada uma boa opção para plantação após a colheita da soja, período da entre safra. O crambe possui uma semente rica em óleos, com aproximadamente 40% do mesmo, sendo 55% de ácido erúcido (COLODETTI, et al, 2012). Apesar da colza ser a principal fonte do ácido, esta não tem disponibilidade suficiente para atender a demanda, sendo assim é incentivada a produção do crambe. A metodologia aplicada baseou-se no uso do extrator Soxhlet, utilizando o hexano, durante um período de 5 horas. A separação do óleo e do solvente dá-se a partir do rota-evaporador. A acidez enzimática assistida por ultrassom dá-se a partir de dois padrões de temperatura e duas faixas de tempo. Na amostra de 45°C, utiliza-se uma variação temporal de 6h e

8h, 3% de catalisador em relação à massa do substrato e 20% de água em relação à massa do óleo; na amostra de 60°C, utilizam-se as mesmas condições de tempo, com catalisador a 3% em relação à massa do substrato e 20% de água. Resultados parciais mostram que a técnica de hidrólise enzimática assistida por ultrassom mostrou-se eficiente na obtenção de ácidos graxos livres. A catálise enzimática em relação à catálise química mostrou-se melhor em relação à temperatura e tempo, além de que nas literaturas, os resultados foram mais efetivos na técnica de catálise enzimática.

Palavras-chave: Hidrólise Enzimática. Crambe. Óleo de Lorenzo.

Introdução

As doenças perixissomais são metabólicas hereditárias de baixa incidência, causada por alteração na formação ou em uma das funções da organela perixissoma. Atualmente, se conhece dois grupos de patologias relacionadas às falhas no perixissoma, um exemplo, é a Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossoma X (X-ALD), esta pertence ao grupo de doenças com deficiência em uma única proteína, mantendo o resto da estrutura intacta. A (X-ALD) é caracterizada pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia longa (VLCFA) em tecidos corporais, o que gera consequências nas glândulas adrenais, disfunções sexuais e urinárias e sistema nervoso, deste modo, o acúmulo dos ácidos graxos destrói a bainha mielina, afetando a transmissão dos impulsos nervosos (MOSER, 1997). O complexo de glicerotrioleato/glicerotrierucato na proporção 4:1 é utilizado no tratamento da X-ALD (RIZZO e col, 1989), este complexo de óleos é chamado de “Óleo de Lorenzo (OL)” em homenagem ao menino que apresentava a ALD, cujos pais foram os maiores incentivadores da produção do óleo.

O crambe (*Crambe abyssinica Hochst*), que está representado nas figuras 1A e 1B, é uma semente rica em óleos, pertencente à família das crucíferas, originária da região quente e seca da Etiópia. Apresenta uma boa opção de cultivo, pois além de suportar geadas típicas do Sul até climas quentes e secos do centro-oeste do Brasil (FERREIRA, 2011), tem um ciclo de aproximadamente 90 dias, período da entressafra, bem como possui uma boa produtividade, cerca de 1.000 e 1.500 quilogramas por hectare (SILVA et al., 2013). O crambe apresenta por volta de 35% a 60% de óleo e cerca de 20% a 40% de proteína, cuja frequência de ácidos graxos é de 58 – 62% do ácido Erúico e 17,2% de ácido oléico, o que é uma desvantagem no setor alimentício, pois tem altos teores de ácido erúico, que em grandes quantidades, ocasiona lesões cardíacas (COLODETTI et al, 2012). Deste modo, é mais utilizável na área de biocombustíveis (MACIEL et al., 2014) mas também pode ser utilizado na fabricação de borracha sintética, filmes plásticos,

nylon, plastificantes, adesivos e isolamento elétrico (ONOREVOLI, 2012).



Figura 1A: Planta *Crambe abyssinica* Hochst com flores.

Fonte: GLOBO RURAL



Figura 1B: Óleo e as sementes de *crambe*

Fonte: ONOREVOLI, 2012.

A hidrólise de óleos e gorduras tem a finalidade de produzir ácidos graxos livres, acilgliceróis parciais e glicerol, como mostra a figura 2. Os processos usados industrialmente são físico-químicos, sob condições como 700 psi de pressão, temperatura de 100 °C a 280, de 2h a 48h. Lipases são enzimas de origem animal, vegetal ou microbiana classificada como hidrolases, que atuam sobre as ligações ésteres de tri, di e monoacilgliceróis. Elas hidrolisam somente ligações acil de lipídeos emulsificados, sendo ativas na interface água/óleo.

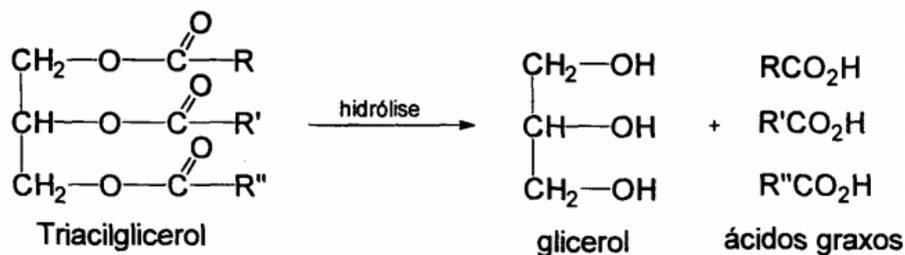


Figura 2: Esquema representativo da hidrólise de triglicerídeos

Fonte: MARZZOCO, Anita, 2007.

O uso de enzima como catalisador permite a minimização da degradação térmica e o consumo de energia, esta constitui uma alternativa para o processo químico da produção de ácidos graxos. Para a realização do processo de hidrólise enzimática são necessários dois requisitos: a formação de uma interface lipídeo/água e a absorção da enzima nesta interface. Desta forma, quanto maior a interface, maior será a quantidade de absorção enzimática, resultando velocidades de hidrólise mais elevadas.

Fazendo uso do menor número possível de observações, permite-se estabelecer a melhor combinação entre fatores, o que é conseguido através de planejamentos experimentais para que se possa determinar o ponto de resposta ótima.

A aplicação da tecnologia enzimática em óleos e gorduras desempenha um importante papel na substituição dos métodos químicos tradicionais. O presente trabalho tem como objetivo a utilização desta tecnologia, na produção de ácido erúcido para fins da síntese do trierucato de glicerol.

Com base nas informações apresentadas, serão estudados os efeitos como temperatura e tempo, com quantidade de reagentes (óleo de crambe, água e catalisador enzimático) fixos na hidrólise enzimática, com intuito de obter os ácidos graxos livres (AGLs), a partir do óleo de crambe.

Material e Métodos

O óleo de crambe foi obtido por extração por Soxhlet, durante um período de 5 horas a pressão atmosférica. Ao final deste período, evapora-se o solvente em rota-evaporador a fim de isolar o óleo. A extração por Soxhlet é uma técnica bastante utilizada por superar as técnicas tradicionais de extração.

O procedimento de extração é realizado do seguinte modo: o solvente é aquecido em balão de fundo redondo, dando origem ao vapor que passa através da amostra do crambe moído, contido em um cartucho de papel filtro, e ao passar do tempo, o solvente arrasta compostos solúveis contidos na amostra e após ciclos, o composto concentra-se no balão de fundo redondo. Após a extração, o óleo bruto pode necessitar de procedimentos de degomação e neutralização. A figura 3 apresenta o método de extração que se utiliza no presente trabalho.



Figura 3: Extração por Soxhlet

Fonte: REDISKE, Rick; O'KEEFE, James, 2013.

A hidrólise enzimática assistida por ultrassom faz por uso das temperaturas de 45°C e 60°C e tempos de 6h e 8h, com uso de 3% de catalisador em relação à massa do substrato (crambe) e 20 % de água em relação à massa do óleo, utilizando a enzima Lipozyme® TL IM em meio livre de solvente orgânico. O produto deste processo, segundo a literatura, está representado abaixo na figura 4.



Figura 4: Amostras finais do processo enzimático assistido por ultrassom

Fonte: CEPPEP

Resultados

Resultados anteriores mostraram que a hidrólise enzimática por ultrassom se mostra bem eficaz, simples e fácil de ser controlada. A extração por Soxhlet permite a constante renovação da amostra com o solvente e por ser uma técnica simples, pode ser aplicada diversas vezes em diferentes amostras. A hidrólise enzimática tem um grande potencial de ação sobre soluções

imiscíveis, além de que as enzimas atuam em diferentes temperaturas e pressão atmosférica.

Considerações finais

O uso do processo enzimático de hidrólise em estudos preliminares se mostrou bem eficiente, com cerca de 40% de óleo, estando dentro dos valores estimados por COLODETTI, 2012. Vê-se que sua utilização é aprovada neste tipo de estudo.

Referências

BUENO, Tânia. Obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados por hidrólise enzimática do óleo de soja. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Engenharia Química de Lorena. Lorena – SP, 2005.

COLODETTI, Tafarel Victor; MARTINS, Lima Deleon; RODRIGUES, Wagner Nunes; BRIINATE, Sebastião Vinícius Batista; TOMAZ, Marcelo Antonio. Crambe: aspectos gerais da produção agrícola. Centro Científico Conhecer. Enciclopédia Biosfera. Publicado em: 30/06/2012.

MATHIAS, João. Crambe. Disponível em:

<http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1706214-4529,00.html>. Acesso em 24 set. 2015, 15h45.

MELLO, Bruna Tais Ferreira de; RODRIGUES, Giovana de Menezes; SILVA, Camila da. Hidrólise enzimática do óleo de crambe (*crambe assyssinica* h.) assistida por ultrassom. E-xacta, Belo Horizonte, v. 8, n.1, p.77-85. (2015). Editora UNIBH.

MOLINARI, D. Uso de ultrassom na hidrólise enzimática do óleo de crambe utilizando a lípase lecitase ultra (Fosfolipase A1). Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Paraná, Toledo, 2015.

MOLINARI, D.; RAIZER, E.; REINEHR T.O.; AWADALLAK, J e SILVA, E. A.

Estudo da influência da água sobre o processo de hidrólise enzimática do óleo de crambe em ultrassom. II Simpósio de Bioenergia e Biocombustíveis do Mercosul. Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Departamento de Engenharia Química. Setembro, 2014.