



## ÁCIDO ERÚCICO POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE CRAMBE ASSISTIDA POR ULTRASSOM

**Souza, Alana S.** Bolsista PROBIC ULBRA, Curso de Biomedicina

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

A Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X (X-ALD) é uma doença caracterizada pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFA). Recomenda-se para o tratamento da X-ALD o uso da mistura glicerotrioleato/glicerotrierucato, na proporção 4:1, conhecida como óleo de Lorenzo. O glicerotrierucato pode ser sintetizado através da reação de esterificação do ácido erúcido com glicerol. Estas reações necessitam de altas temperaturas, o que pode ser contornado com o uso de enzimas como catalisador, as quais utilizam condições mais brandas. A aplicação de ultrassom pode produzir um efeito positivo na atividade enzimática. A semente de crambe (*Crambe abyssinica*) é uma excelente fonte de óleo com alto teor de ácido erúcido. Esse estudo tem como objetivo avaliar a influência da fração água/óleo na hidrólise enzimática do óleo de crambe em banho ultrassônico, utilizando a enzima Lypozime® TL como catalisador em meio livre de solvente orgânico para a produção de ácido erúcido, bem como realizar o estudo cinético para a produção de ácidos graxos livres a partir deste óleo. O óleo de crambe utilizado como substrato da hidrólise nesse trabalho é obtido através da extração com hexano, em extrator Soxhlet por um período de 5h; a seguir é clarificado e degomado. As reações de hidrólise enzimática do óleo de crambe assistidas por ultrassom em sistema batelada serão conduzidas com o intuito de coletar dados para a análise da influência da fração água/óleo na reação de hidrólise e para a construção de curvas cinéticas. As quantidades de reagentes utilizadas foram fixadas em 5 g de óleo e 0,3 g de enzima, com frações água/óleo de 2,5m%, 5m%, 10m% e 20m%, a uma temperatura de 45 °C. Tubos de ensaio de 20 mL contendo as amostras são imersos em aparelho de ultrassom configurado em potência máxima. Para cada fração de água/óleo serão preparadas 5 amostras. Ao término de cada reação, as amostras serão retiradas do aparelho e aquecidas até uma temperatura de 100 °C com o intuito de desativar a enzima e interromper a reação. As amostras serão então centrifugadas por 5 minutos com o intuito de separar a fase aquosa contendo a enzima e o glicerol da fase oleosa contendo o produto de interesse. A quantidade de ácidos graxos livres presentes no óleo de crambe será determinada por titulação com uma solução de NaOH 0,05 M. Resultados preliminares em relação aos parâmetros analisados indicam que a hidrólise do óleo de crambe assistida por ultrassom, com a Lypozime é uma técnica eficiente na obtenção de ácidos graxos livres. O uso de ultrassom tem se mostrado efetivo no aumento da atividade enzimática. No entanto outros componentes da reação devem ser investigados para que se possa obter um ajuste mais preciso da influência dos parâmetros reacionais e,

consequentemente, um entendimento melhor da reação.

Palavras-chave: Hidrólise enzimática. Crambe. Ácido erúcido.

## 1. Introdução

As doenças perixissomais estão ligadas a disfunções dos peroxissomos, algumas delas tendo envolvimento neurológico. A Adrenoleucodistrofia ligada ao cromossomo X (X-ALD) é uma doença caracterizada pelo acúmulo de ácidos graxos de cadeia muito longa (VLCFA), que é uma doença que atinge particularmente os homens em qualquer faixa etária. Recomenda-se para X-ALD, o uso da mistura glicerotrioleato/glicerotrierucato, na proporção 4:1, conhecida como óleo de Lorenzo (OL). Este trabalho visa a obtenção de ácido erúcido a partir de semente de crambe para ser empregado, posteriormente, na síntese do trierucato de glicerol, um dos componentes do OL.

O Crambe (*Crambe abyssinica*) surgiu como uma boa opção, por ser uma planta com alto teor de óleo, com uma cultura de ciclo curto, em média 90 dias, e com produtividade entre 1.000 e 1.500 quilogramas por hectare (Silva et al., 2013). As sementes de Crambe possuem entre 35-60% de óleo em sua semente e 20-40% de proteína. (Fig. 1) Os ácidos graxos predominantes em sua semente são: erúcido (58-66%) e oleico (17,2%) tornando o óleo impróprio para o consumo humano e tendo seu cultivo focado na produção de biodiesel (Maciel et al., 2014). A hidrólise consiste em uma reação química entre o óleo e a água, gerando glicerina e ácidos graxos livres. O uso de ultrassom em processos enzimáticos tem se mostrado efetivo no aumento da atividade de enzimas. Esse efeito parece ser específico para cada enzima e dependente das condições de sonicação usadas. A aplicação de ultrassom pode produzir um efeito positivo na atividade enzimática. Quando dois líquidos imiscíveis, como por exemplo, água e óleo, são tratados com ultrassom, há aumento na velocidade de formação de gotículas microscópicas com aumento da superfície de contato e das forças coesivas, resultando na formação de microemulsões.

Com base nos aspectos relacionados anteriormente, os objetivos desse trabalho foram: avaliar o efeito da fração água/óleo sobre o processo de hidrólise em batelada, catalisado pela enzima Lypozime® TL, utilizando banho ultrassônico para a produção de ácido erúcido a partir do óleo de crambe e realizar o estudo

cinético das reações envolvidas na produção deste ácido graxo livre pelo método empregado.



Figura 1: Planta *crambe abyssinica* com flores Óleo e as sementes de *crambe*

## 2. Material e Métodos

O óleo de crambe utilizado como substrato da hidrólise nesse trabalho foi obtido através da extração por Soxhlet, o óleo é obtido por meio de extração com solvente com ponto de ebulição próximo a 70 °C, sendo o hexano o mais utilizado. Este solvente possui vantagens, como dissolver com facilidade o óleo sem agir sobre outros componentes dos grãos e possuir composição homogênea (GOMES Jr., 2010).

A extração por Soxhlet é em geral, uma técnica bem estabelecida que claramente supera em desempenho outras técnicas convencionais de extração.

Nesta técnica o solvente é aquecido em balão de fundo redondo, originando vapor que passa através da amostra contida em um cartucho sendo que ao longo do tempo, o solvente vai arrastando compostos solúveis presentes na amostra e depois de muitos ciclos, o composto desejado concentra-se no balão de fundo redondo. Após a extração por Soxhlet, o óleo bruto pode necessitar de procedimentos de refinamento, tais como degomagem e neutralização. (Fig. 2)



Figura 2: Extração por Soxhlet

As reações de hidrólise enzimática do óleo de crambe assistidas por ultrassom em sistema batelada serão conduzidas com o intuito de coletar dados para a análise da influência da fração água/óleo na reação de hidrólise e para a construção de curvas cinéticas. As quantidades de reagentes utilizadas foram fixadas em 5 g de óleo e 0,3 g de enzima, com frações água/óleo de 2,5 m%, 5 m%, 10 m% e 20 m%, a uma temperatura de 45 °C. Tubos de ensaio 20 mL contendo as amostras serão imersos no aparelho de ultrassom configurado em potência máxima. (Fig. 3)



Figura 3: Tubos de ensaio imersos no aparelho de ultrassom.

Para cada fração de água/óleo serão preparadas 5 amostras. Ao término de cada reação, as amostras serão retiradas do aparelho e aquecidas até uma temperatura de cerca de 100 °C com o intuito de desativar a enzima e interromper a

reação. As amostras serão então centrifugadas em uma centrífuga durante 5 minutos com o intuito de separar a fase aquosa contendo a enzima e o glicerol da fase oleosa contendo o produto de interesse. A quantidade de ácidos graxos livres presentes no óleo de crambe será determinada por titulação com uma solução de NaOH 0,05 M.

### 3. Resultados

Estudos preliminares na reação de hidrólise do óleo de crambe assistida por ultrassom, com a Lypozime tem mostrado que este processo é uma alternativa viável para a produção de ácidos graxos livres. (Fig. 4)

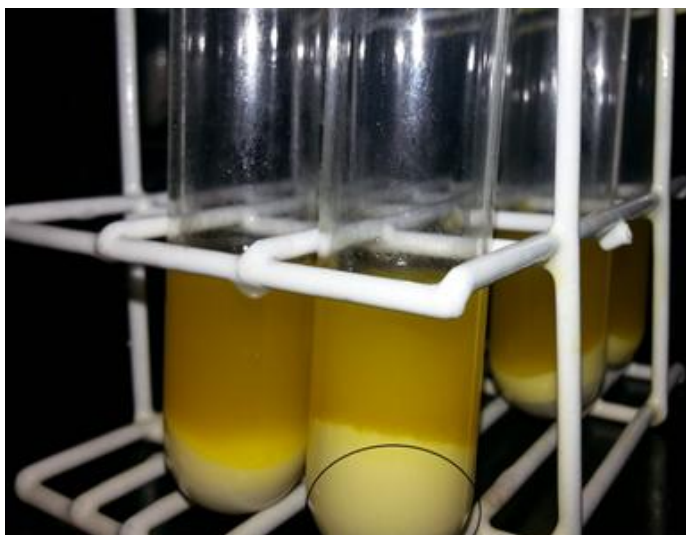


Figura 4: Amostras da reação de hidrólise enzimática assistida por ultrassom.

### 4. Considerações finais

Através dos parâmetros analisados até o momento, foi possível comprovar que a hidrólise enzimática assistida por ultrassom é uma técnica eficiente na obtenção de ácidos graxos livres, pois apresentou um rendimento significativo nestes. No entanto outros componentes da reação devem ser investigados para que se possa obter uma avaliação precisa da influência dos parâmetros reacionais e, conseqüentemente, um entendimento melhor da reação.

## 5. Agradecimentos

Agradeço a ULBRA por me proporcionar esta bolsa e me dar à oportunidade de fazer parte deste estudo.

## 6. Referências

MATHIAS, João. **Crambe**. Disponível em <http://revistagloborural.globo.com/GloboRural/0,6993,EEC1706214-4529,00.html>.

MOLINARI, D. **USO DE ULTRASSOM NA HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE CRAMBE UTILIZANDO A LIPASE LECITASE ULTRA (Fosfolipase A1)**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual do Oeste do Paraná. Toledo, 2015.

B. T. F. MELLO, G. M. RODRIGUES e C. SILVA. **HIDRÓLISE ASSISTIDA POR ULTRASSOM DO ÓLEO DE CRAMBE (*Crambe abyssinica*) EM MEIO LIVRE DE SOLVENTE ORGÂNICO**. Florianópolis- SC. Out 2014

OLIVA, Ana Cristina Ensinas, Qualidade de sementes de crambe submetidas a métodos de secagem e períodos de armazenamento Dissertação Mestre em Agronomia (Energia na Agricultura) Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” Faculdade de ciências agrônômicas Campus de Botucatu. BOTUCATU-SP, 2010.