

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA NATUREZA  
BIOTECNOLOGIA – BACHARELADO**

**YASMIM FERNANDES LUIZ**

**HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DO BIOMA AMAZÔNIA  
PARA A PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÁCIDOS GRAXOS**

**Alfenas, MG  
2025**

**YASMIM FERNANDES LUIZ**

**HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DO BIOMA AMAZÔNIA  
PARA A PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÁCIDOS GRAXOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia, pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Bioprocessos.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes

**Alfenas, MG  
2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Luiz, Yasmim Fernandes .

Hidrólise enzimática de óleos extrídos do bioma amazônia para a produção sustentável de ácidos graxos / Yasmim Fernandes Luiz. - Alfenas, MG, 2025.

35 f. : il. -

Orientador(a): Adriano Aguiar Mendes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) -  
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. . Óleos amazônicos. 2. Hidrólise. 3. Ácidos graxos livres. 4. Lipase. I.  
Mendes, Adriano Aguiar, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

**YASMIM FERNANDES LUIZ**


**HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DE ÓLEOS EXTRAÍDOS DO BIOMA AMAZÔNIA  
PARA A PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÁCIDOS GRAXOS**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação do Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Bioprocessos.

Aprovada em: 08 de dezembro de 2025


Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Documento assinado digitalmente  
 **ADRIANO AGUIAR MENDES**  
Data: 19/12/2025 19:29:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>


Dr. Guilherme José Sabi  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Documento assinado digitalmente  
 **GUILHERME JOSE SABI**  
Data: 19/12/2025 17:57:23-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Me. Lucas Borges Matheus  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Documento assinado digitalmente  
 **LUCAS BORGES MATHEUS**  
Data: 19/12/2025 16:44:19-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**Alfenas, MG  
2025**

Aos meus pais, pelo amor incondicional, pela paciência e por nunca medirem esforços para me apoiar em cada etapa da minha caminhada. Ao meu irmão, por ser motivo de alegria e inspiração diária. E ao meu namorado, pelo carinho, compreensão e incentivo constantes, mesmo nos momentos mais desafiadores.

## **AGRADECIMENTOS**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (Processo APQ–00944–24) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 306253/2023–2) pelo suporte financeiro.

A autora expressa seus sinceros agradecimentos ao Professor Dr. Adriano Aguiar Mendes, pela orientação, confiança e constante incentivo ao longo do desenvolvimento deste trabalho. Estende também seus agradecimentos ao mestrando Felipe Ribeiro Carlos e à iniciação científica Kiara Faria de Assis, pela colaboração, apoio técnico e contribuições essenciais durante a execução das etapas experimentais.

## RESUMO

O presente estudo tem como objetivo a produção de concentrados de ácidos graxos livres (AGLs), uma importante classe de compostos para a indústria oleoquímica, por hidrólise enzimática de óleos extraídos de espécies oleaginosas do bioma Amazônia como andiroba (*Carapa guianensis*), bacaba (*Oenocarpus distichus*) e castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*). A formulação comercial em pó de lipase de *Candida rugosa* (LCR) foi empregada como biocatalisador. As reações de hidrólise foram conduzidas a 40 °C em sistemas isentos de agentes emulsificantes e tamponantes com contínua agitação mecânica de 1500 rpm empregando uma concentração de LCR de 3,2 g L<sup>-1</sup> em meios contendo apenas óleos vegetais e água (40% em massa de óleo). Embora os três óleos apresentem diferentes composições em ácidos graxos, similares perfis de hidrólise nos primeiros 90 min de reação foram obtidos (conversões entre 55% e 60%). A hidrólise completa dos óleos de andiroba, bacaba e castanha-do-Pará foi obtida após 210 min, 240 min e 270 min de reação, respectivamente. Análises de espectrometria no infravermelho (IV) confirmam a completa conversão dos óleos em AGLs. Estes resultados demonstram claramente que a LCR exibiu uma ampla especificidade e atividade catalítica na hidrólise de óleos com diferentes composições em ácidos graxos. Além disso estes resultados demonstram a relevância deste estudo na produção enzimática de concentrados de AGLs na ausência da suplementação de aditivos como emulsificantes e tamponantes, contribuindo na implementação de processos de interesse industrial com menor complexidade técnica e mais sustentáveis (baixo consumo energético e menor geração de resíduos).

Palavras-chave: Óleos amazônicos; Hidrólise; Ácidos graxos livres; Lipase.

## ABSTRACT

This study aims to produce free fatty acid (FFA) concentrates, an important class of compounds for the oleochemical industry, through the enzymatic hydrolysis of oils extracted from oleaginous species of the Amazon biome, such as andiroba (*Carapa guianensis*), bacaba (*Oenocarpus distichus*), and Brazil nut (*Bertholletia excelsa*). The commercial powdered formulation of *Candida rugosa* lipase (CRL) was employed as a biocatalyst. Hydrolysis reactions were carried out at 40 °C in systems free of emulsifying and buffering agents, under continuous mechanical stirring at 1500 rpm, using an enzyme concentration of 3.2 g L<sup>-1</sup> in media containing only vegetable oils and water (40 wt% oil). Although the three oils present different fatty acid compositions, similar hydrolysis profiles were obtained during the first 90 min of reaction, with conversions between 55% and 60%. Complete hydrolysis of andiroba, bacaba, and Brazil nut oils was achieved after 210, 240, and 270 min of reaction, respectively. Infrared spectroscopy (IR) analyses confirmed the complete conversion of the oils into FFAs. Furthermore, these results clearly demonstrate that CRL exhibited broad specificity and catalytic activity in the hydrolysis of oils with different fatty acid compositions. These findings highlight the relevance of this study for the enzymatic production of FFA concentrates without the addition of emulsifying or buffering agents, contributing to the development of industrially relevant processes with lower technical complexity and greater environmental sustainability (reduced energy consumption and waste generation).

Keywords: Amazonian oils; Hydrolysis; Free fatty acids; Lipase.

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
1.1	OBJETIVOS.....	13
<b>1.1.1</b>	<b>Objetivo Geral.....</b>	<b>13</b>
<b>1.1.2</b>	<b>Objetivos Específicos.....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>14</b>
2.1	ÁCIDOS GRAXOS E SUA IMPORTÂNCIA INDUSTRIAL.....	14
2.2	TRIACILGLICERÓIS E MATÉRIAS-PRIMAS OLEAGINOSAS.....	16
2.3	HIDRÓLISE DE TRIACILGLICERÓIS: PRINCÍPIOS E MECANISMOS.....	18
2.4	LIPASES: CARACTERÍSTICAS, MECANISMOS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS.....	20
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>22</b>
3.1	MATERIAIS.....	22
3.2	PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS ÓLEOS.....	22
3.3	SEPARAÇÃO E SECAGEM DOS AGLS PRODUZIDOS.....	23
3.4	ANÁLISE DE ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO DOS ÓLEOS AMAZÔNICOS E AGLS PRODUZIDOS.....	23
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
4.1	HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS ÓLEOS: ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO NA FORMAÇÃO DOS AGLS.....	23
4.2	ANÁLISE DE IV DOS ÓLEOS E DOS AGLS PRODUZIDOS NA REAÇÃO.....	27
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>29</b>
<b>6</b>	<b>CRONOGRAMA.....</b>	<b>29</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os ácidos graxos livres (AGLs) constituem uma valiosa classe de compostos orgânicos de grande interesse em processos industriais amplamente empregados na produção de biocombustíveis como biodiesel, bioquerosene, emulsificantes – tensoativos, cosméticos (emolientes), lubrificantes, plastificantes, fármacos e alimentos (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025). Tradicionalmente, esses compostos são obtidos pela hidrólise química de diferentes triacilgliceróis (TAGs) como óleos vegetais e microbianos, gorduras animais e óleos residuais (fritura) empregando catalisadores ácidos ou alcalinos sob altas temperaturas (200–300 °C) e pressões elevadas (50–60 bar) (Baena *et al.*, 2022). Apesar da alta eficiência (rendimento em AGLs acima de 97%), esse processo convencional empregado no setor industrial apresenta alguns inconvenientes como elevado consumo energético, geração de efluentes complexos e altamente corrosivos, além da sua baixa seletividade em relação aos produtos formados (formação de produtos oriundos da oxidação e interesterificação) (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025).

Neste contexto, a hidrólise de TAGs catalisada por lipases (triacilglicerol éster acilhidrolases, EC 3.1.1.3) vem se destacando como uma alternativa mais sustentável e seletiva na produção de AGLs (Ng *et al.*, 2025; Fernandez-Lafuente, 2010). Essas enzimas atuam na interface óleo/água catalisando a hidrólise de ligações ésteres de acilgliceróis para liberar AGLs e glicerol, bem como monoacilgliceróis (MAGs) e diacilgliceróis (DAGs) (Fernandez-Lafuente, 2010; Schmid; Verger, 1998). As lipases também catalisam reações de síntese orgânica em ambientes com baixa concentração de água como esterificação, transesterificação e interesterificação para a produção de valiosos ésteres para a indústria oleoquímica (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Schmid, Verger, 1998). Essas enzimas possuem elevada atividade catalítica em condições brandas de temperatura e pH, e alta especificidade regio-, enantio- e quimiosseletiva, o que permite o direcionamento do processo para produtos de maior valor agregado. Além disso, por serem enzimas, o uso de lipases reduz significativamente o impacto ambiental do processo e minimiza a necessidade de tratamento posterior dos resíduos gerados (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Ng *et al.*, 2025). Essas propriedades têm despertado grande interesse do setor industrial por esta classe de enzimas (Ng *Et Al.*, 2025; Stergiou *et al.*, 2013).

De fato, o mercado global de lipases está estimado em USD 1,13 bilhão em 2025. Projeções indicam que este mercado pode alcançar USD 2,65 bilhões em 2035, com uma taxa de crescimento anual de 9,1% neste período de avaliação (Lipase Market, 2025). Este crescimento é sustentado pelo aumento da demanda dessas enzimas em diversos setores industriais como alimentos e bebidas, detergentes, aromas e fragrâncias, rações animais e produtos farmacêuticos. Dentre elas, as lipases microbianas dominam este cenário devido à sua efetividade em custos, escalabilidade e estabilidade funcional em diferentes condições de processamento. Além disso, os avanços contínuos na engenharia de proteínas, aliados às tecnologias de fermentação mais eficientes, possibilitam melhorias no rendimento, na especificidade por substratos e na estabilidade térmica dessas enzimas (Lipase Market, 2025; Mordor Intelligence, 2025).

Dentre as diferentes lipases microbianas disponíveis, a enzima produzida pela levedura *Candida rugosa* (LCR) é uma das lipases mais extensivamente estudada devido à sua alta versatilidade catalítica em reações de hidrólise de triacilgliceróis e de síntese de ésteres. Essa lipase possui atividade catalítica ótima em valores de pH entre 6,0 e 8,0 e temperaturas variando de 30 a 40 °C para a enzima livre (Domínguez De María *et al.*, 2006). Essa lipase é considerada não específica quanto à posição de hidrólise em triacilgliceróis, ou seja, ela hidrolisa ligações ésteres nas três diferentes posições dos TAGs – posições 1, 2, e 3 (Domínguez De María *et al.*, 2006; Barriuso *et al.*, 2016). Devido à sua capacidade de catalisar reações na interface água-óleo, essa lipase é amplamente utilizada na hidrólise de óleos e gorduras naturais, produzindo concentrados ácidos graxos livres (AGLs) e glicerídeos parciais como monoacilglicerídeos (MAGs) e diacilglicerídeos (DAGs). Tais reações são relevantes na modificação de diferentes óleos na produção de AGLs para fins industriais e em aplicações analíticas na caracterização de diferentes TAGs (Domínguez de María *et al.*, 2006; Barriuso *et al.*, 2016). Além da hidrólise, LCR também catalisa reações de síntese de ésteres de aroma, lipídios estruturados e biodiesel em meios não aquosos (condições com baixa concentração de água no meio), principalmente por esterificação de diferentes ácidos carboxílicos e álcoois (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Ng *et al.*, 2025; Domínguez de María *et al.*, 2006; Barriuso *et al.*, 2016).

Estudos anteriores em nosso de grupo de pesquisa foram conduzidos com a finalidade de obter concentrados de AGLs por hidrólise completa de diferentes óleos vegetais como soja (*Glycine max*) e moringa (*Moringa oleífera* Lam), bem como de fritura obtido na etapa de processamento de alimentos, em meios isentos de agentes emulsificantes e tamponantes catalisada por LCR (Sabi *et al.*, 2022; Barbosa *et al.*, 2021). Estes concentrados de ácidos graxos obtidos foram separados, lavados e desidratados para serem empregados como matérias-primas para a produção de diferentes ésteres com propriedades como lubrificantes (Sabi *et al.*, 2022; Bolina; Gomes; Mendes, 2021), e plastificantes em filmes de poli(cloreto de vinila) (PVC) (Sabi *et al.*, 2025), alternativos aos plastificantes convencionais obtidos do petróleo como ésteres de ácido ftálico, por reações de esterificação em meios isentos de solventes orgânicos.

Com o intuito de ampliar a versatilidade e aplicação desta lipase em reações de interesse industrial, óleos não convencionais obtidos de espécies oleaginosas do bioma Amazônia (óleos amazônicos), ainda pouco explorados, foram empregados como matérias-primas promissoras para a conversão biocatalítica em concentrados de AGLs. O nosso país abriga uma grande variedade de espécies oleaginosas, muitas delas nativas do bioma Amazônia, cujos óleos apresentam perfis de ácidos graxos diversificados e de grande interesse para diferentes setores industriais, bem como elevado teor de TAGs (Menezes *et al.*, 2025; Soares *et al.*, 2024). Dentre os óleos extraídos de espécies oleaginosas nativas da Amazônia, destacam-se o óleo de bacaba (*Oenocarpus distichus*); o óleo de castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*) e, por fim, o óleo de andiroba (*Carapa guianensis*).

Portanto, a conversão biocatalítica desses óleos representa uma estratégia sustentável para a produção de concentrados de AGLs em condições amenas de temperatura e pressão e ambientalmente seguras, o que contribui para a agregação de valores a recursos nativos e o desenvolvimento regional. Além de reduzirem o impacto ambiental, em comparação aos métodos químicos tradicionais, os processos enzimáticos aplicados aos óleos amazônicos contribuem fortemente para a valorização da biodiversidade de nosso país, com a bioeconomia regional e a redução dos impactos ambientais associados à produção química convencional de AGLs, reportado acima. Diante disso, torna-se relevante investigar a eficiência catalítica de LCR, lipase selecionada para a execução deste estudo, baseada em trabalhos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa (Carvalho *et al.*, 2021; Sabi *et al.*, 2022), na hidrólise desses óleos visando a conversão completa em AGLs.

A execução de propostas neste tema também pode contribuir para o avanço científico e tecnológico no campo da biocatálise, ampliando a atuação de lipases na produção de compostos de interesse industrial. É importante ressaltar que a aplicação de LCR como biocatalisador na produção de concentrados de AGLs empregando óleos amazônicos como matéria-prima oleaginosa ainda é pouco reportada na literatura. Além dos avanços científicos, este trabalho apresenta relevante impacto social e ambiental, ao propor o uso sustentável de recursos naturais do bioma Amazônia, agregando valor a matérias-primas regionais e incentivando o desenvolvimento de cadeias produtivas mais sustentáveis. Dessa forma, a pesquisa contribui diretamente para o cumprimento dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), em especial a ODS 9 (Indústria, Inovação e Infraestrutura), ao fomentar processos biotecnológicos mais limpos; a ODS 12 (Consumo e Produção Responsáveis), ao estimular o uso eficiente de recursos naturais; e a ODS 15 (Vida Terrestre), ao promover a valorização e conservação do bioma amazônico por meio de aplicações tecnológicas sustentáveis.

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Desenvolver um bioprocesso sustentável para a produção de concentrados de ácidos graxos livres (AGLs) por hidrólise enzimática de óleos extraídos de espécies oleaginosas do bioma Amazônia, utilizando lipase de *Candida rugosa* (LCR) como biocatalisador, em sistemas isentos de agentes emulsificantes e tamponantes.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- A. Avaliar a eficiência catalítica da lipase de *Candida rugosa* na hidrólise enzimática de óleos de andiroba (*Carapa guianensis*), bacaba (*Oenocarpus distichus*) e castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*).
- B. Determinar os perfis de conversão e o tempo necessário para a completa hidrólise dos óleos estudados.
- C. Investigar a influência da composição em ácidos graxos dos diferentes óleos sobre a atividade e a especificidade da enzima.
- D. Caracterizar os espectros de infravermelho (IV) para confirmar a formação de AGLs por meio de análises espectroscópicas no IV.

- E. Discutir a relevância do processo enzimático proposto em termos de sustentabilidade, redução de resíduos e potencial aplicação industrial na produção de compostos de interesse oleoquímico.

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 ÁCIDOS GRAXOS E SUA IMPORTÂNCIA INDUSTRIAL

Os ácidos graxos constituem uma das classes mais importantes de compostos orgânicos naturais, sendo os principais componentes estruturais de lipídios como triacilgliceróis, fosfolipídios e ceras (Baena *et al.*, 2022). Quimicamente, são formados por cadeias hidrocarbônicas longas, geralmente lineares, contendo um grupo carboxila terminal (–COOH), e podem ser classificados como saturados, monoinsaturados ou poli-insaturados, dependendo do número de ligações duplas presentes em sua estrutura (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Ng *et al.*, 2025).

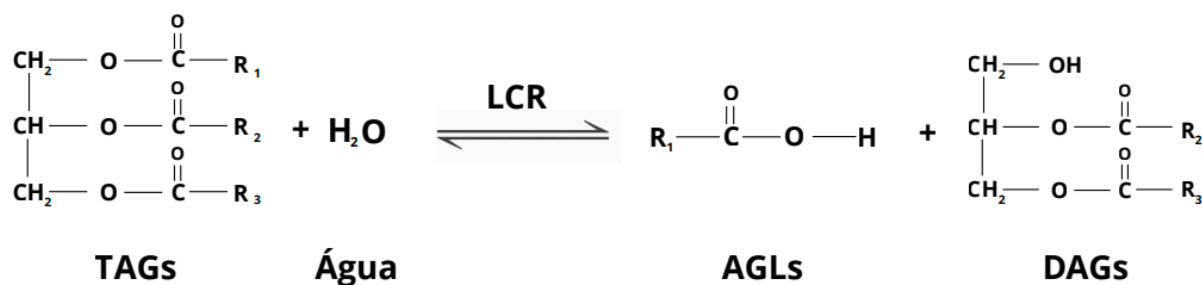
As propriedades físico-químicas dos ácidos graxos — como ponto de fusão, viscosidade e estabilidade oxidativa — estão diretamente relacionadas ao comprimento da cadeia e ao grau de insaturação (Stanciu, 2019). Cadeias mais longas e saturadas conferem maior estabilidade térmica, enquanto as insaturadas, devido às ligações duplas, são mais suscetíveis à oxidação (Fediuc; Oroian, 2025; Mahdavi *et al.* 2017). Essa diversidade estrutural permite uma ampla gama de aplicações industriais, que incluem desde a formulação de alimentos e cosméticos até a produção de combustíveis e bioprodutos de interesse oleoquímico (Sabi *et al.*, 2022; Bolina; Gomes; Mendes, 2021).

Na indústria oleoquímica, os ácidos graxos livres (AGLs) são considerados precursores estratégicos para a síntese de compostos de alto valor agregado, como sabões, lubrificantes, resinas, emulsificantes, bioplastificantes e biodiesel (Sabi *et al.*, 2025; Carvalho *et al.*, 2021; Barbosa *et al.* 2021). A sua versatilidade está associada à possibilidade de reações subsequentes de esterificação, interesterificação e epoxidação, que originam derivados de elevada aplicabilidade em diferentes setores industriais (Sabi *et al.*, 2022; Stergiou *et al.*, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010).

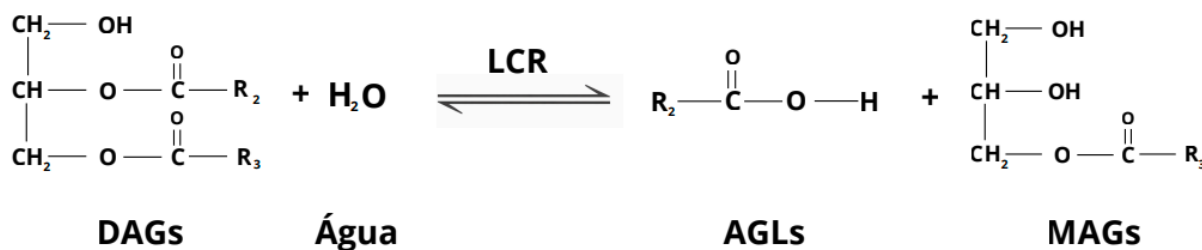
Tradicionalmente, os AGLs são obtidos por hidrólise química de óleos e gorduras, processos que demandam elevadas temperaturas e pressões, além do uso de catalisadores agressivos, o que gera resíduos e altos custos energéticos (Rooney; Weatherley, 2001). Diante desse cenário, rotas biotecnológicas baseadas na utilização de enzimas, em especial lipases, vêm sendo amplamente estudadas como alternativas sustentáveis e economicamente viáveis (Ng *et al.*, 2025; Adlercreutz, 2013; Barriuso *et al.*, 2016). Essas enzimas catalisam a hidrólise das ligações éster dos triacilgliceróis, promovendo a liberação controlada de ácidos graxos livres sob condições mais brandas de reação (Baena *et al.*, 2022; Domínguez De María *et al.*, 2006). O processo de hidrólise sequencial de TGAs para a produção de AGLs e intermediários como MAGs e DAGs é mostrado na Figura 1 (Ng *et al.*, 2025).

Figura 1 - Esquema representativo de hidrólise enzimática sequencial de TAGs na interface óleo/água.

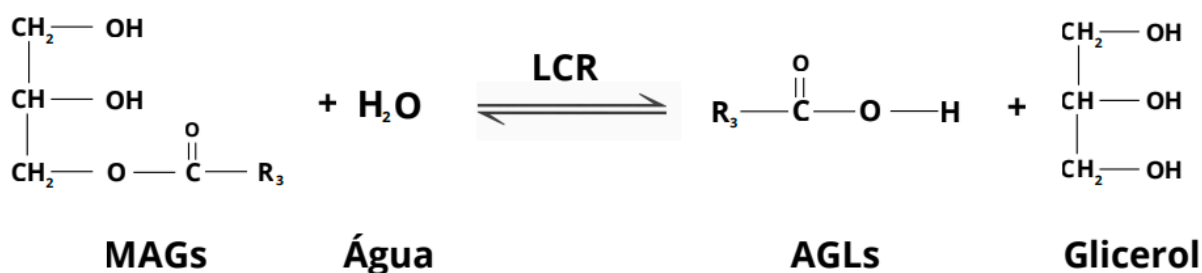
### 1º Etapa: Produção de DAGs



### 2º Etapa: Produção de MAGs



### 3º Etapa: Produção de licerol



Fonte: NG *et al.*, 2025.

Os ácidos graxos obtidos por via enzimática apresentam elevado grau de pureza e menor impacto ambiental, o que tem impulsionado sua utilização em bioprodutos de nova geração, como biolubrificantes, bioplastificantes e emulsões alimentícias estruturadas (Zheng *et al.* 2023; Barbosa *et al.* 2021). Além disso, sua origem renovável e biodegradável reforça a importância desses compostos no contexto da economia circular e da química verde (Fediuc; Oroian, 2025; Soares *et al.*, 2024; Bolina; Gomes; Mendes, 2021).

Dessa forma, o estudo e a produção de ácidos graxos a partir de fontes vegetais ou resíduos agroindustriais representam uma alternativa promissora para a substituição de insumos petroquímicos e para o desenvolvimento de processos sustentáveis com menor impacto ambiental (Menezes *et al.*, 2025).

## 2.2 TRIACILGLICERÓIS E MATÉRIAS-PRIMAS OLEAGINOSAS

Os triacilgliceróis (TAGs) são os principais constituintes dos óleos e gorduras naturais, representando a principal forma de armazenamento de energia em organismos vegetais e animais (BAENA *et al.*, 2022). Estruturalmente, são formados por uma molécula de glicerol esterificada a três cadeias de ácidos graxos, que podem variar em comprimento e grau de insaturação. Essas variações estruturais determinam propriedades físico-químicas como viscosidade, fluidez e estabilidade térmica, influenciando diretamente o desempenho dos óleos em aplicações industriais e biotecnológicas (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Ng *et al.*, 2025; Stanciu, 2019).

Os TAGs desempenham papel fundamental não apenas como reserva energética, mas também como precursores de compostos bioativos e matérias-primas estratégicas na síntese de bioprodutos, incluindo biolubrificantes, biopolímeros e plastificantes (Sabi *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2021). A composição em ácidos graxos de cada óleo vegetal confere características específicas ao produto, o que permite a seleção direcionada de matérias-primas conforme o objetivo do processo.

Diversas fontes oleaginosas podem ser utilizadas para a obtenção de TAGs, destacando-se as de origem vegetal e microbiana. As fontes microbianas, como leveduras, fungos e microalgas, têm despertado crescente interesse pela capacidade de acumular lipídios sob condições controladas e por possibilitar o aproveitamento de substratos residuais, reduzindo custos e impactos ambientais (Ng *et al.*, 2025; Bhuyan; Saikia, 2025). Contudo, os TAGs, assim como óleos e gorduras naturais e seus derivados, como óleos de cozinha usados, graxas e AGLs, têm sido amplamente investigados como matérias-primas sustentáveis pela indústria oleoquímica, em função de sua ampla disponibilidade, composição diversificada e facilidade de extração (Sabi *et al.*, 2022; Bolina; Gomes; Mendes, 2021). Nesse contexto, os óleos provenientes de espécies amazônicas se destacam por sua elevada qualidade e por representarem alternativas promissoras para o desenvolvimento de bioprocessos sustentáveis (Menezes *et al.*, 2025; Soares *et al.*, 2024).

Entre as principais oleaginosas do bioma Amazônia, destacam-se a andiroba (*Carapa guianensis*), a bacaba (*Oenocarpus distichus*) e a castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*), cujos óleos apresentam composições distintas e propriedades de grande interesse biotecnológico (Menezes *et al.*, 2025). O óleo de andiroba é caracterizado por altos teores de ácidos graxos insaturados, como oleico e linoleico, e possui reconhecida aplicação nas indústrias cosmética e farmacêutica devido às suas propriedades anti-inflamatórias e regenerativas (Amazonoil, 2025). O óleo de bacaba, por sua vez, apresenta um perfil lipídico rico em ácidos graxos monoinsaturados e compostos fenólicos, o que lhe confere propriedades antioxidantes e elevado valor nutricional (Amazonoil, 2025). Já o óleo de castanha-do-Pará combina ácidos graxos saturados e insaturados, sendo amplamente utilizado nas formulações alimentícias e cosméticas (Amazonoil, 2025).

Esses óleos, além de sua importância socioeconômica, possuem elevado potencial biotecnológico devido à sua composição favorável à catálise enzimática. Sua estrutura rica em triacilgliceróis e a predominância de ácidos graxos de cadeia longa tornam-nos excelentes substratos para reações de hidrólise, esterificação e transesterificação mediadas por lipases (Ferreira *et al.* 2022). Tais características permitem o aproveitamento de óleos vegetais ricos em triacilgliceróis em bioprocessos destinados à produção de compostos de valor agregado, com destaque para biolubrificantes e plastificantes ambientalmente mais seguros (Sabi *et al.*, 2025; Carvalho *et al.*, 2021).

A utilização sustentável de óleos amazônicos também assume grande relevância ecológica e econômica. A valorização dessas matérias-primas fortalece a bioeconomia regional, estimula o manejo sustentável e promove o uso racional dos recursos da floresta (Soares *et al.*, 2024). Além disso, o aproveitamento biotecnológico desses óleos amazônicos está alinhado aos princípios da economia circular e da química verde, contribuindo para a redução de resíduos, a mitigação de impactos ambientais e a substituição gradual de insumos petroquímicos (Menezes *et al.*, 2025). Nesse sentido, a integração entre biotecnologia, sustentabilidade e valorização da biodiversidade amazônica consolida-se como uma estratégia essencial para o avanço de processos industriais mais eficientes e ambientalmente responsáveis.

### 2.3 HIDRÓLISE DE TRIACILGLICERÓIS: PRINCÍPIOS E MECANISMOS

A hidrólise de triacilgliceróis (TAGs) é uma reação fundamental na biotecnologia e na indústria oleoquímica, pois permite a obtenção de produtos de alto valor agregado, como ácidos graxos livres (AGLs), monoacilgliceróis (MAGs), diacilgliceróis (DAGs) e glicerol (Zheng *et al.* 2023; Baena *et al.*, 2022; Rooney; Weatherley, 2001). O processo consiste na clivagem das ligações éster entre o glicerol e os ácidos graxos, utilizando moléculas de água como agente nucleofílico. Essa reação pode ocorrer tanto por vias químicas quanto enzimáticas, dependendo das condições empregadas e dos catalisadores utilizados (Ng *et al.*, 2025; Fernandez -Lafuente, 2010).

Na hidrólise química tradicional, o método mais amplamente empregado é o processo Colgate-Emery, desenvolvido no século XX para a produção industrial de ácidos graxos. Trata-se de um processo não catalítico, no qual óleos ou gorduras reagem diretamente com água sob altas pressões (até 60 atm) e temperaturas elevadas (200–260 °C) (Rooney; Weatherley, 2001; Baena et al., 2022). Apesar da elevada eficiência de conversão, os processos químicos convencionais apresentam limitações importantes, como alto consumo energético, degradação térmica dos produtos e baixa seletividade, aspectos amplamente discutidos na literatura como desvantagens em comparação com rotas enzimáticas (Fernandez-Lafuente, 2010). Além disso, a formação de subprodutos indesejáveis e a necessidade de equipamentos resistentes à corrosão elevam significativamente os custos operacionais e ambientais, o que limita sua aplicação em contextos sustentáveis (Barbosa *et al.* 2021; Carvalho *et al.*, 2021).

Como alternativa ao processo químico convencional, a hidrólise enzimática tem se destacado por oferecer maior eficiência sob condições brandas de operação e pela possibilidade de obtenção de produtos com elevada pureza e seletividade (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Ng *et al.*, 2025; Barriuso *et al.*, 2016; Fernandez-Lafuente, 2010). Nesse tipo de reação, as lipases (EC 3.1.1.3) desempenham papel central, atuando como biocatalisadores na clivagem das ligações éster presentes nos triacilgliceróis. As lipases catalisam a hidrólise em interfaces entre fases aquosas e oleosas, sendo classificadas como enzimas interfaciais devido à sua capacidade de reconhecer e atuar seletivamente em substratos insolúveis em água (Stergiou *et al.*, 2013; Schmid; Verger, 1998).

O mecanismo geral de hidrólise enzimática ocorre em três etapas principais: adsorção da lipase na interface óleo/água, formação do complexo enzima–substrato e liberação dos produtos finais — AGLs, glicerol e intermediários mono e diacilgliceróis (Ng *et al.*, 2025; Stergiou *et al.*, 2013; Schmid; Verger, 1998). Durante o processo, a enzima interage com o triacilglicerol formando um intermediário acil-enzima, que é posteriormente hidrolisado pela molécula de água, regenerando o sítio ativo da lipase (Adlercreutz, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010). A eficiência dessa reação depende de fatores como temperatura, pH, composição do óleo, presença de emulsificantes e disponibilidade de água (Xiao *et al.*, 2025; Savchina *et al.*, 2024).

Os produtos obtidos da hidrólise — glicerol, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e ácidos graxos livres — possuem ampla aplicabilidade industrial. O glicerol é utilizado em formulações cosméticas e farmacêuticas, enquanto os AGLs são empregados na síntese de biolubrificantes, surfactantes e plastificantes biodegradáveis (Sabi *et al.*, 2022; Barbosa *et al.* 2021). Os mono e diacilgliceróis atuam como emulsificantes naturais na indústria alimentícia, conferindo estabilidade e textura a produtos processados (Xiao *et al.*, 2025; Zheng *et al.* 2023).

A utilização de lipases permite um controle mais preciso da seletividade reacional, tornando possível direcionar a reação para produtos específicos de acordo com o tipo de enzima e as condições de operação (Adlercreutz, 2013; Stergiou *et al.*, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010). Tais características fazem desse processo uma alternativa atrativa para a substituição de rotas convencionais, especialmente em um contexto de crescente demanda por tecnologias limpas e sustentáveis (Ng *et al.*, 2025; Sabi *et al.*, 2025; Carvalho *et al.*, 2021).

Nos últimos anos, o desenvolvimento de lipases mais robustas e estáveis, como as derivadas de *Candida rugosa*, *Thermomyces lanuginosus* e *Rhizomucor miehei*, tem impulsionado o avanço da hidrólise enzimática em escala industrial (Sabi *et al.*, 2022; Barriuso *et al.*, 2016). Essas enzimas apresentam alta especificidade por triacilgliceróis de cadeia longa, ampla tolerância a solventes e excelente desempenho em sistemas com baixa atividade de água (Carvalho *et al.*, 2021; Barriuso *et al.*, 2016; Fernandez-Lafuente, 2010).

Dessa forma, a hidrólise enzimática de óleos e gorduras representa uma rota biotecnológica promissora para a produção de compostos de valor agregado, oferecendo vantagens técnicas, econômicas e ambientais em relação ao processo químico tradicional. Sua aplicação, especialmente no aproveitamento de matérias-primas renováveis e regionais, como os óleos amazônicos, contribui para o fortalecimento da bioeconomia e para o desenvolvimento de tecnologias compatíveis com os princípios da sustentabilidade e da economia circular (Ng *et al.*, 2025; Sabi *et al.*, 2025; Menezes *et al.*, 2025).

## 2.4 LIPASES: CARACTERÍSTICAS, MECANISMOS E APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS

As lipases (EC 3.1.1.3) são enzimas pertencentes à classe das hidrolases, responsáveis pela catálise da clivagem de ligações éster entre glicerol e ácidos graxos presentes em triacilgliceróis, originando glicerol e ácidos graxos livres (Stergiou *et al.*, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010). Essas enzimas exibem ampla versatilidade catalítica, atuando não apenas em reações de hidrólise, mas também em processos de esterificação, transesterificação e interesterificação, o que as torna de grande interesse para as indústrias química, alimentícia, farmacêutica e de biocombustíveis (Bolina; Gomes; Mendes, 2021; Carvalho, *et al.*, 2021; Ng *et al.*, 2025;).

Do ponto de vista estrutural, as lipases apresentam uma arquitetura tridimensional composta majoritariamente por folhas  $\beta$  e hélices  $\alpha$ , que formam uma cavidade hidrofóbica responsável pelo reconhecimento do substrato (Stergiou, *et al.*, 2013; Schmid; Verger, 1998). O sítio ativo contém a chamada “tríade catalítica”, geralmente formada pelos resíduos de serina, histidina e glutamato ou aspartato, que participam diretamente da clivagem da ligação éster (Adlercreutz, 2013). Uma característica marcante dessas enzimas é a presença de uma região denominada “tampa” (lid), cuja abertura é induzida pela interface entre as fases óleo e água, expondo o sítio ativo e iniciando a reação catalítica (Stergiou *et al.*, 2013; Tiss *et al.*, 2002).

O mecanismo de ação das lipases é do tipo interfacial, ou seja, ocorre preferencialmente na superfície entre as fases aquosa e oleosa. Nesse processo, a enzima se adsorve na interface, formando um complexo enzima–substrato, promovendo a nucleofilização da carbonila do triacilglicerol pela serina catalítica, o que resulta na formação de um intermediário acil-enzima (Adlercreutz, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010).

Diversos fatores influenciam a atividade catalítica das lipases, entre eles pH, temperatura, grau de emulsificação, concentração de substrato e presença de solventes ou surfactantes (Xiao *et al.*, 2025; Savchina *et al.*, 2024). Cada lipase possui um intervalo ótimo de pH e temperatura que garante sua estabilidade e máxima eficiência catalítica. Condições extremas podem provocar desnaturação da proteína ou alteração conformacional, reduzindo a atividade enzimática (Adlercreutz, 2013; Fernandez-Lafuente, 2010; Domínguez De María *et al.*, 2006). Além disso, a presença de emulsificantes pode modificar a acessibilidade do substrato e o comportamento interfacial, interferindo na cinética da reação (Yao *et al.*, 2013; Tiss *et al.*, 2002).

Entre as lipases mais estudadas e empregadas em bioprocessos industriais, destaca-se a lipase de *Candida rugosa* (LCR), uma enzima extracelular amplamente utilizada em reações de hidrólise e esterificação devido à sua alta especificidade por ésteres de ácidos graxos de cadeia longa e triglicerídeos naturais (Barriuso *et al.*, 2016; Domínguez De María *et al.*, 2006). A LCR apresenta pH ótimo na faixa de 6,0 a 8,0 e temperatura ideal de atuação entre 30 °C e 40 °C, podendo manter boa estabilidade em sistemas livres de solventes e em diferentes fontes lipídicas (Carvalho *et al.*, 2021; Barriuso *et al.*, 2016).

Estudos estruturais demonstram que a LCR pertence à família das lipases dependentes de interface, exibindo uma conformação flexível que facilita a interação com substratos hidrofóbicos (Barriuso *et al.*, 2016; Domínguez De María *et al.*, 2006). Essa propriedade é particularmente importante em sistemas bifásicos óleo/água, como os empregados na hidrólise de óleos vegetais, nos quais a enzima atua eficientemente sem necessidade de surfactantes (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025). Além disso, a LCR possui múltiplas isoformas (LIP1–LIP6), cada uma com diferentes especificidades de substrato e taxas catalíticas, o que amplia seu potencial de aplicação industrial (Barriuso *et al.*, 2016).

Em comparação a outras lipases comerciais, a de *Candida rugosa* destaca-se pela sua elevada atividade catalítica e capacidade de atuar em meios isentos de agentes emulsificantes e tamponantes, simplificando o sistema reacional e reduzindo a geração de resíduos (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025; Carvalho *et al.*, 2021).

Essas características tornam a LCR um biocatalisador estratégico em processos sustentáveis voltados à valorização de matérias-primas renováveis, especialmente óleos vegetais amazônicos, que apresentam ampla diversidade de ácidos graxos e elevado potencial biotecnológico (Menezes *et al.*, 2025; Soares *et al.*, 2024). Dessa forma, o uso dessa enzima em condições brandas e ambientalmente seguras contribui para o avanço da biocatálise aplicada à indústria oleoquímica, consolidando rotas mais limpas, seletivas e economicamente viáveis.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 MATERIAIS**

Lipase de *Candida rugosa* do Tipo VII (LCR) com atividade enzimática de 16200 U g<sup>-1</sup> de formulação em pó e concentração de proteína de 24,5 mg g<sup>-1</sup>, foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Os óleos refinados de andiroba (Código do Produto – 019; Lote AMO 019 – 003/052025), bacaba (Código do Produto – 020; Lote AMO 020 – 001/042025) e castanha-do-Pará (Código do Produto – 022; Lote AMO 022 – 009/122024) foram comprados da Amazon Oil Indústria e Comércio de Óleos Vegetais Ltda. (Ananindeua, Pará, Brasil). As características destes óleos como composição em ácidos graxos e parâmetros físico-químicos estão listados na Tabela 1 (Informação técnica fornecida pela empresa). Os outros reagentes químicos empregados neste estudo foram de grau analítico adquiridos da Synth<sup>®</sup> (São Paulo, SP, Brasil).

Tabela 1 - Composição em ácidos graxos e propriedades físico-químicas dos óleos.

Ácidos Graxos	Composição (% em massa)		
	Andiroba	Bacaba	Castanha-do-Pará
Palmítico (C <sub>16:0</sub> )	25,0–32,0	13,0–15,0	16,0–20,0
Palmitoleico (C <sub>16:1</sub> )	0,8–1,5	3,5–5,0	0,5–1,2
Estearico (C <sub>18:0</sub> )	6,0–13,0	4,0–7,0	9,0–13,0
Oleico (C <sub>18:1</sub> )	45,0–58,0	50,0–65,0	36,0–45,0
Linoleico (C <sub>18:2</sub> )	6,0–14,0	7,0–16,0	33,0–38,0
Behênico (C <sub>22:0</sub> )	-	6,0–10,0	-
Outros	-	-	4,0–6,0
MM <sub>AGLs</sub> <sup>a</sup> (g mol <sup>-1</sup> )	290,0	284,3	295,1
Aparência (25 °C)	Líquido	Líquido	Líquido
Cor	Amarelo para marrom	Esverdeado	Amarelo translúcido
Ponto de fusão (°C)	22	6	4
Densidade a 25 °C (g mL <sup>-1</sup> )	0,900–0,998	0,918–0,926	0,910–0,998
Índice de iodo (gI <sub>2</sub> por 100 g)	90,0–110,0	56,0–68,0	55,0–80,0

Acidez (mg <sub>KOH</sub> g <sup>-1</sup> )	<30,0	<20,0	<20,0
Índice de saponificação (mg <sub>KOH</sub> g <sup>-1</sup> )	190–210	140–155	180–210

Fonte: Adaptado de Amazonoil (2025).

### 3.2 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS ÓLEOS

A hidrólise completa dos óleos amazônicos catalisada pela lipase de *Candida rugosa* (LCR) foi realizada nas condições experimentais estabelecidas em um estudo anterior realizado em nosso grupo de pesquisa (Sabi *et al.*, 2022). As misturas reacionais contendo 50 g de meio composto apenas de óleos amazônicos e água destilada na proporção de 40% em massa de óleos foram adicionadas em frascos fechados de polipropileno com capacidade de 250 mL (relação altura:diâmetro do frasco de 1,5), imersos em um banho-maria com controle de temperatura. A homogeneidade dos sistemas reacionais (criação de emulsões estáveis) foi mantida por um agitador mecânico de bancada (marca Fisatom, modelo 713, potência do motor de 70–130 W e frequência de 50–60 Hz) equipado com um impelidor helicoidal de três pás, confeccionado em chapas de aço inoxidável de 2 mm de espessura e diâmetro de 6 cm. As reações foram conduzidas a 40 °C com uma frequência de agitação de 1500 rpm e concentração de LCR de 3,2 g.L<sup>-1</sup> (Sabi *et al.*, 2022). Amostras (1 g) do meio de reação preparados foram periodicamente retiradas com auxílio de uma micropipeta e transferidas para Erlenmeyers de 125 mL contendo 10 mL de etanol 95% em massa e tituladas com solução de NaOH 30 mmol L<sup>-1</sup> empregando fenolftaleína como indicador. As reações foram realizadas com duas replicações. A porcentagem de hidrólise (HP – %) foi determinada empregando a seguinte equação (Eq. (1)) (Rooney, Weatherley, 2001):

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

Em que:  $V_{NaOH}$  é o volume de solução de NaOH gasto durante a titulação (mL),  $M_{NaOH}$  é a concentração da solução de NaOH ( $30 \text{ mmol L}^{-1}$ ),  $MM_{AGLs}$  é a massa molecular média dos ácidos graxos dos óleos reportados na Tabela 1,  $m_{amostra}$  é a massa de alíquota retirada do sistema (1g), e  $f$  é a fração de óleo no início da reação ( $f= 0,4$  – que corresponde a 40% em massa de óleos).

### 3.3 SEPARAÇÃO E SECAGEM DOS AGLS PRODUZIDOS

As misturas reacionais foram transferidas separadamente para um funil de separação com capacidade de 500 mL e adicionados 100 mL de água destilada a  $60^{\circ}\text{C}$  (vazão volumétrica de 1:1) para favorecer a separação das fases aquosa (contendo glicerol, LCR e água) e orgânica (fase superior de cada sistema contendo os AGLs obtidos). A fase inferior (aquosa) foi descartada e a fase orgânica foi lavada três vezes para a obtenção de AGLs isentos de glicerol residual. Em seguida, eles foram adicionados em frascos contendo sulfato de sódio anidro (20% em massa). Estes sistemas foram mantidos em contato por 18 h em repouso a  $25^{\circ}\text{C}$  para a remoção da água residual.

### 3.4 ANÁLISE DE ESPECTROMETRIA NO INFRAVERMELHO DOS ÓLEOS AMAZÔNICOS E AGLS PRODUZIDOS

Os espectros de IV dos óleos amazônicos (TAGs) e dos AGLs produzidos foram obtidos em um espectrômetro IRAffinity-1 Shimadzu (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Esses espectros foram adquiridos após 32 varreduras entre  $3500$  e  $600 \text{ cm}^{-1}$  com resolução espectral de  $4 \text{ cm}^{-1}$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DOS ÓLEOS: ESTUDO DO EFEITO DO TEMPO NA FORMAÇÃO DOS AGLS

Os diferentes perfis de ácidos graxos (massas moleculares e graus de insaturação) dos três óleos amazônicos deste estudo podem influenciar fortemente as propriedades reológicas dos meios de reação como a densidade e viscosidade, bem como a interação da lipase com as gotas de óleo que, portanto, influencia a sua especificidade e atividade catalítica no processo de

hidrólise (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025). De um modo geral, os TAGs contendo altas concentrações de ácidos graxos saturados e com massas moleculares elevadas, como por exemplo ácidos palmítico, esteárico e behênico, podem parcialmente cristalizar/solidificar no meio de reação (Savchina *et al.*, 2024), dependendo da temperatura de processo. Neste caso, a agregação das gotas de óleos, processo de coalescência, tende a aumentar as forças de interação intermoleculares (forças de van der Waals) na interface óleo/água que aumenta a resistência do meio ao escoamento (Stanciu, 2019; Ghazani *et al.*, 2015).

Essa agregação reduz drasticamente a área interfacial da emulsão (Ghazani *et al.*, 2015) e, conseqüentemente, pode afetar a atividade catalítica de lipases (Ng *et al.*, 2025). Por outro lado, óleos vegetais contendo elevadas concentrações de ácidos graxos insaturados como mono- (ácidos oleico e palmitoleico) e poli-insaturados (ácidos linoleico ou linolênico) em suas composições favorecem a formação de emulsões com maior dispersão das gotas de óleo e, conseqüentemente, melhor área interfacial em função da menor agregação. Neste contexto, a formação de emulsões mais estáveis favorece a adsorção de moléculas de lipases na superfície dessas gotas que aumenta consideravelmente a sua função catalítica na hidrólise de TAGs (Ng *et al.*, 2025).

Conforme mostrado na Tabela 1, os três óleos amazônicos adquiridos contêm diferentes perfis de ácidos graxos saturados e insaturados com diferentes graus de insaturação, o que pode influenciar a especificidade e o desempenho catalítico de LCR, bem como a velocidade inicial da reação e o rendimento em AGLs.

A preparação de diferentes emulsões, inclusive àquelas empregadas como meios de reação para processos de hidrólise enzimática de TAGs, geralmente requer a adição de agentes estabilizantes e/ou emulsificantes com o intuito de melhorar as propriedades interfaciais como a redução da tensão superficial, maior controle do tamanho das gotas e estabilização física da emulsão. Diferentes polióis (glicerol e sorbitol), proteínas como caseína, polissacarídeos como goma arábica, surfactantes sintéticos (Tween 20, Tween 80, Triton X-100, ésteres de açúcares) e acilgliceróis como MAGs e DAGs têm sido amplamente empregados na estabilização de emulsões em formulações de alimentos, cosméticos e produtos de higiene pessoal (Ng *et al.*, 2025; Xiao *et al.*, 2025; Zheng *et al.* 2023). No caso de reações de hidrólise enzimática, a utilização desses agentes favorece o processo de transferência de massa das moléculas de lipase para a área interfacial, o que melhora sensivelmente o seu desempenho catalítico. Dentre eles, a goma arábica, um composto natural constituído por polissacarídeos e glicoproteínas, tem sido o emulsificante mais utilizado em reações de hidrólise de TAGs catalisada por lipases (Yao *et al.*, 2013; Tiss *et al.*, 2002). A ampla utilização se deve à boa estabilidade física e qualidade das

emulsões produzidas, o que favorece a difusão e adsorção de moléculas de lipase na área interfacial (Tiss *et al.*, 2002).

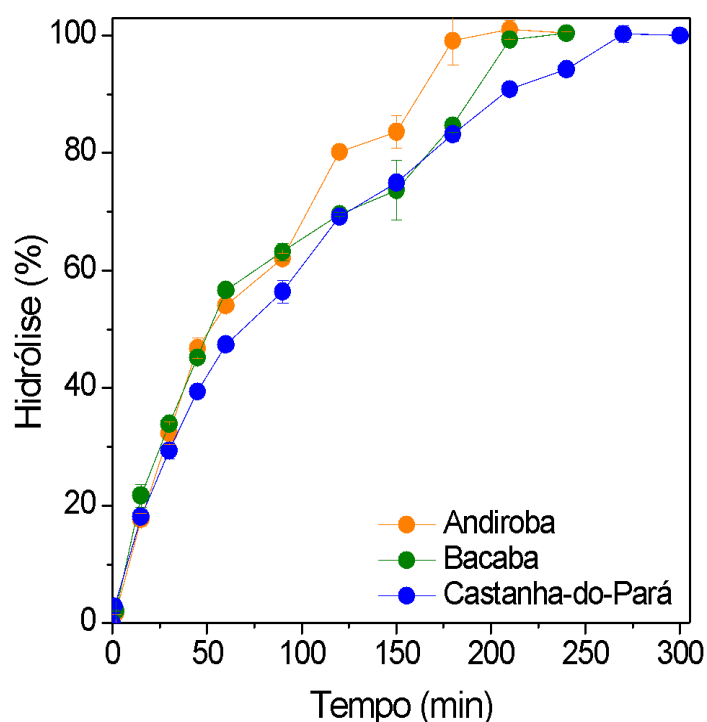
No entanto, a hidrólise de TAGs na ausência destes agentes apresenta enormes vantagens práticas, econômicas e ambientais (Baena *et al.*, 2022). Em sistemas isentos de emulsificantes, a separação das fases orgânica (fase superior – AGLs) e aquosa (fase inferior – solução de glicerol e lipase) é bastante facilitada (Sabi *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2021;). Portanto, a condução de processos enzimáticos na ausência desses emulsificantes simplifica as etapas de separação e recuperação dos produtos da reação, pois não requer a adição de compostos químicos como sais e solventes necessários para “quebrar” as emulsões (Emulsion Breaking Techniques, 2025). De fato, estes processos podem resultar na obtenção de fases aquosas com menor contaminação com aditivos, o que permite obter glicerol e AGLs com alto grau de pureza, o que é particularmente vantajoso para aplicações industriais nas áreas de alimentos, cosméticos e de química fina (Baena *et al.*, 2022; Ng *et al.*, 2025). Além disso, a ausência desses aditivos pode também reduzir o consumo de insumos químicos e solventes e custos no processo, bem como a complexidade e o volume dos efluentes gerados.

Dessa forma, a condução de reações enzimáticas na ausência de emulsificantes/estabilizantes é bastante atrativa no estabelecimento de processos mais sustentáveis, na qual a simplicidade operacional, facilidade de separação/purificação dos produtos e a redução de impactos ambientais e custos são parâmetros altamente relevantes. Portanto, as reações de hidrólise enzimática dos óleos foram conduzidas na ausência de nenhum aditivo como agentes emulsificantes e tamponantes. Neste caso, a emulsificação do sistema foi mantida pela intensa agitação mecânica no sistema (1500 rpm) que reduz o processo de coalescência (agregação) das gotas de óleo e possibilita obter uma área interfacial adequada ao desempenho catalítico de LCR.

Os perfis de hidrólise dos três óleos, determinados pela concentração de ácidos graxos liberados na reação, são mostrados na Figura 2. Embora os óleos vegetais possuam distintas propriedades físico-químicas devido às suas diferentes composições em ácidos graxos (ver Tabela 1), eles apresentaram perfis similares de hidrólise nos primeiros 90 min de reação (porcentagem de conversão entre 55 e 60%). Após este período, pode-se observar que o óleo de andiroba foi hidrolisado mais rapidamente que os outros dois óleos. Este resultado pode ser explicado por sua elevada porcentagem de ácidos graxos insaturados em sua composição e propriedades físicas, na qual pode ser confirmada pelo seu mais alto índice de iodo, parâmetro que mede o grau de insaturação de óleos vegetais (Astm International, 1995), entre 90,0 e 110,0 g<sub>12</sub> por 100 g de óleo. De fato, a completa hidrólise deste óleo foi alcançada após 210 min de

reação. No entanto, os óleos de bacaba e de castanha-do-Pará foram totalmente convertidos em AGLs após 240 e 270 min de reação, respectivamente. Estes diferentes tempos de reação poderiam ser explicados pelas diferentes composições em ácidos graxos e suas posições na estrutura dos TAGs, bem como a qualidade das emulsões obtidas ao longo da reação, que influenciaram a interação da enzima com as gotas de óleos na interface. Embora diferentes tempos tenham sido observados para cada óleo no processo de hidrólise, LCR apresentou ampla versatilidade e alta atividade catalítica para as diferentes ligações ésteres existentes em suas estruturas. Similares resultados foram também obtidos na hidrólise enzimática dos óleos de moringa, soja refinado e de fritura objetivando a produção de concentrados em AGLs para a produção de diferentes ésteres com propriedades lubrificantes e plastificantes (Sabi *et al.*, 2022; Barbosa *et al.*, 2021).

Figura 2 - Efeito do tempo de reação na hidrólise enzimática dos óleos amazônicos. As reações foram realizadas a 40 °C, 3,2 g L<sup>-1</sup> de LCR, agitação mecânica de 1500 rpm empregando 50 g de meio de reação composto de 40% em massa de óleo.



Fonte: do Autor (2025).

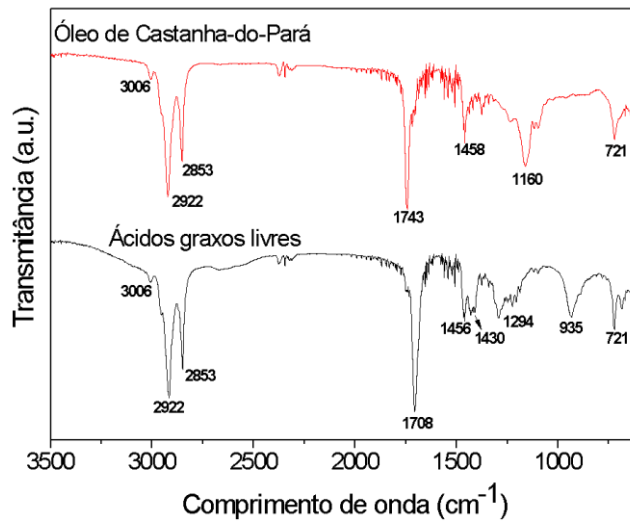
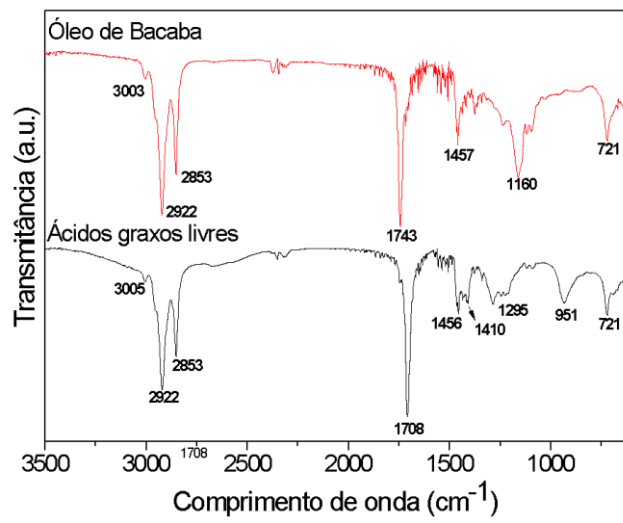
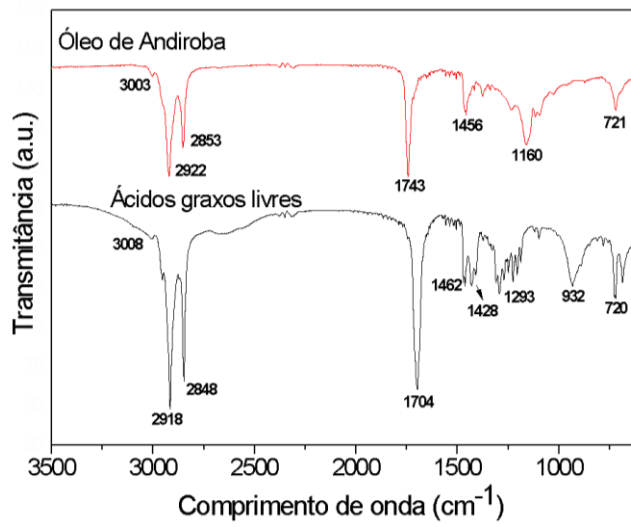
## 4.2 ANÁLISE DE IV DOS ÓLEOS E DOS AGLS PRODUZIDOS NA REAÇÃO

Os espectros de infravermelho dos respectivos óleos amazônicos e seus AGLs entre 3500 e 600  $\text{cm}^{-1}$  são mostrados na Figura 3. Todos os espectros obtidos para os óleos e AGLs apresentam bandas características similares em suas composições. A banda próxima a 3000  $\text{cm}^{-1}$  é referente ao estiramento do grupo =C–H característico de ligações duplas insaturadas na conformação *cis* existentes nos ácidos graxos insaturados como palmitoleico, oleico e linoleico (Mahdavi *et al.* 2017; Bhuyan; Saikia, 2025). As intensas bandas nas regiões de 2922–2918  $\text{cm}^{-1}$  e 2853–2848  $\text{cm}^{-1}$  representam os estiramento assimétrico e simétrico da ligação –C–H dos grupos metileno (–CH<sub>2</sub>–) e metila (–CH<sub>3</sub>), respectivamente (Mahdavi *et al.* 2017; Fediuc; Oroian, 2025). A banda na região de 1462–1456  $\text{cm}^{-1}$  é atribuída à vibração de flexão C–H do grupo terminal –CH<sub>3</sub> relacionada à estrutura das cadeias alifáticas destes compostos (Fediuc; Oroian, 2025). Por fim, a banda em 721  $\text{cm}^{-1}$  representa a vibração de balanço (*rocking*) dos grupos metileno (–CH<sub>2</sub>–) de cadeia longa. Esta banda está relacionada ao empacotamento cristalino das cadeias alifáticas, na qual indica ordenação molecular típica de TAGs (Bhuyan; Saikia, 2025; Fediuc; Oroian, 2025).

Os espectros dos óleos mostram claramente a presença de intensas bandas características em 1743  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde à vibração de estiramento –C=O do grupo éster carboxílico dos TAGs e em 1160  $\text{cm}^{-1}$  atribuída às vibrações de estiramento ligação –C–O de seus grupos éster (Mahdavi *et al.*, 2017; Fediuc; Oroian, 2025).

Após o processo de hidrólise enzimática, pode-se observar nitidamente o desaparecimento da banda em 1160  $\text{cm}^{-1}$ , característica de ligações éster de TAGs, reportado acima, e o deslocamento da banda em 1743  $\text{cm}^{-1}$  para a região de 1708–1704  $\text{cm}^{-1}$  referente ao estiramento da ligação –C=O de grupos carboxílicos dos AGLs (MAHDAVI *et al.* 2017). Além disso, o aparecimento da intensa banda em 1295  $\text{cm}^{-1}$  é característica do estiramento da ligação –C–O– dos grupos carboxílicos dos AGLs (–COOH) (Fediuc; Oroian, 2025; Mahdavi *et al.* 2017). A existência dessas bandas nos espectros dos diferentes AGLs produzidos confirmam a hidrólise enzimática completa dos óleos.

Figura 3 - Espectros no infravermelho dos óleos e dos AGLs obtidos na hidrólise.



Fonte: do Autor (2025).

## 5 CONCLUSÃO

Neste estudo, um processo sustentável conduzido na ausência de agentes emulsificantes e tamponantes e solventes orgânicos foi proposto na produção de concentrados de ácidos graxos livres (AGLs) por hidrólise enzimática de óleos de espécies oleaginosas do bioma Amazônia. A lipase de *Candida rugosa* (LCR) mostrou uma larga especificidade e atividade catalítica no processo, resultando na hidrólise destes óleos entre 210 e 270 min de reação. Este estudo mostra claramente que o processo enzimático proposto mostra ser altamente eficiente do ponto de vista industrial devido ao não requerimento da adição de agentes emulsificantes e tamponantes na reação que favorecem a recuperação e purificação dos produtos obtidos na reação como AGLs e glicerol que são de grande interesse para a indústria oleoquímica. Além disso, ele pode ser altamente promissor no estabelecimento de processos industriais mais sustentáveis e seguros, pois minimiza a geração de resíduos e o consumo energético e possibilita a obtenção de produtos com alta qualidade.

## 6 CRONOGRAMA

Para o cumprimento das etapas propostas neste projeto de pesquisa seguiremos o cronograma de atividades descrito a seguir:

Atividade	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
	a	e	a	a	a	u	u	o	e	u	o	e
	n	v	r	r	r	i	n	l	o	t	t	v
	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Revisão Bibliográfica	X	X	X									
Estudo do Referencial Teórico	X	X	X									
Elaboração dos Instrumentos de Coleta de Dados	X											
Coleta de Dados	X	X	X									
Análise dos Dados			X	X	X	X						
Redação dos Resultados e da Discussão							X	X	X	X		
Redação do Trabalho de Conclusão							X	X	X	X	X	
Apresentação do Trabalho de Conclusão												X

## 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADLERCREUTZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6406, 2013.

AMAZONOIL. Andiroba (*Carapa guianensis*). Disponível em: <https://amazonoil.com.br/produtos-da-floresta/andiroba-carapa-guianensis/>. Acesso em: 28 out. 2025.

AMAZONOIL. Bacaba (*Oenocarpus distichus*). Disponível em: <https://amazonoil.com.br/produtos-da-floresta/bacaba-oenocarps-distichus/>. Acesso em: 28 out. 2025.

AMAZONOIL. Castanha-do-Pará (*Bertholletia excelsa*). Disponível em: <https://amazonoil.com.br/produtos-da-floresta/castanha-do-para-bertholletia-excelsa/>. Acesso em: 28 out. 2025.

BAENA, A. *et al.* Enzymatic hydrolysis of waste fats, oils and greases (FOGs): Status, prospective, and process intensification alternatives. **Genie des procédés [Chemical Engineering and Processing]**, v. 175, n. 108930, p. 108930, 2022.

BARBOSA, M. S. *et al.* Biolubricant production under zero-waste Moringa oleifera Lam biorefinery approach for boosting circular economy. **Industrial Crops and Products**, v. 167, n. 113542, p. 113542, 2021.

BARRIUSO, J. *et al.* Structural traits and catalytic versatility of the lipases from the Candida rugosa-like family: a review. **Biotechnology Advances**, v. 34, n. 5, p. 874–885, 2016.

BHUYAN, P.; SAIKIA, L. Waste Daucus carota (carrot) leaves as a source of highly active heterogeneous base catalyst for biodiesel production from soybean oil. **Next Materials**, v. 8, n. 100792, p. 100792, 2025.

BOLINA, I. C. A.; GOMES, R. A. B.; MENDES, A. A. Biolubricant production from several oleaginous feedstocks using lipases as catalysts: Current scenario and future perspectives. **Bioenergy Research**, v. 14, n. 4, p. 1039–1057, 2021.

CARVALHO, W. C. A. *et al.* Eco-friendly production of trimethylolpropane triesters from refined and used soybean cooking oils using an immobilized low-cost lipase (Eversa® Transform 2.0) as heterogeneous catalyst. **Biomass & Bioenergy**, v. 155, n. 106302, p.

106302, 2021.

DOMÍNGUEZ DE MARÍA, P. *et al.* Understanding *Candida rugosa* lipases: an overview. **Biotechnology Advances**, v. 24, n. 2, p. 180–196, 2006.

**EMULSION breaking techniques.** Disponível em: <https://www.spectrosci.com/oil-in-water-analysis/oil-in-water-analysis-techniques/emulsion-breaking-techniques>. Acesso em: 28 out. 2025.

FEDIUC, G.; OROIAN, M. FTIR analysis for authentication and fatty acid determination of walnut oil adulterated with common vegetable oils. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie [Food Science and Technology]**, v. 234, n. 118589, p. 118589, 2025.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and prospects as an industrial biocatalyst. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 62, n. 3–4, p. 197–212, 2010

FERREIRA, O. O. *et al.* Essential Oil of the Plants Growing in the Brazilian Amazon: Chemical Composition, Antioxidants, and Biological Applications. **Molecules**, v. 27, n. 14, p. 4373, 2022..

GHAZANI, S. M. *et al.* Engineering the viscosity and melting behaviour of triacylglycerol biolubricants via interesterification. **RSC Advances**, v. 5, n. 47, p. 37180–37187, 2015.

**INTELLIGENCE, Mordor.** Lipase market size, growth, share and trends report 2030. [S. l.]: [s. n.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/>. Acesso em: 28 out. 2025.

**LIPASE market.** Disponível em: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/lipase-market>. Acesso em: 28 out. 2025.

MAHDAVI, H. *et al.* Preparation of highly flexible cellulose acetate membranes modified by hyperbranched poly(amine ester)-epoxidized soybean oil and evaluation of its filtration properties. **Cellulose (London, England)**, v. 24, n. 12, p. 5389–5402, 2017.

MENEZES, T. C. *et al.* NIR-based classification of vegetable oils from Amazon rainforest and quantification of adulterants. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 138, n. 106988, p. 106988, 2025.

NG, W. Z. *et al.* Unveiling the role of mechanical process intensifications and chemical additives in boosting lipase-catalyzed hydrolysis of vegetable oil for fatty acid production: a comprehensive review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 284, n. Pt 1, p. 138144, 2025.

ROONEY, D.; WEATHERLEY, L. R. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid–liquid reactor. **Process Biochemistry (Barking, London, England)**, v. 36, n. 10, p. 947–953, 2001.

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

SABI, G. J. *et al.* Production of environmentally friendly plasticizers derived from soybean oils using biochemical (lipases) and chemical catalysts – performance in flexible PVC films. **Process Biochemistry (Barking, London, England)**, v. 154, p. 63–74, 2025.

SAVCHINA, E. *et al.* Structuring vegetable oils through enzymatic glycerolysis for water-in-oil emulsions. **Food Chemistry**, v. 443, n. 138596, p. 138596, 2024.

SCHMID, R. D.; VERGER, R. Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. **Angewandte Chemie (International Ed. in English)**, v. 37, n. 12, p. 1608–1633, 1998.

SOARES, S. D. *et al.* Trends in the valorization of native Amazon palm trees as sources of bioactive lipids for use as functional ingredients. **Trends in Food Science & Technology**, v. 154, n. 104777, p. 104777, 2024.

STANCIU, I. A new mathematical model for the viscosity of vegetable oils based on freely sliding molecules. **Grasas y Aceites**, v. 70, n. 3, p. e318, 2019.

**STANDARD test method for determination of the iodine value of fats and oils.**

Disponível em: <https://www.astm.org/d5554-95.html>. Acesso em: 28 out. 2025.

STERGIOU, P. Y. *et al.* Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. **Biotechnology Advances**, v. 31, n. 8, p. 1846–1859, 2013.

TISS, A. *et al.* Interfacial binding and activity of lipases at the lipid–water interface: effects of gum Arabic and surface pressure. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 26, n. 1–2, p.

135–145, 2002.

XIAO, T. *et al.* Advances in emulsion stability: a review on mechanisms, role of emulsifiers, and applications in food. **Food Chemistry: X**, v. 29, n. 102792, p. 102792, 2025.

YAO, X. *et al.* Impact of surfactants on the lipase digestibility of gum arabic-stabilized O/W emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 33, n. 2, p. 393–401, 2013.

ZHENG, J. *et al.* Enzymatic preparation of mono- and diacylglycerols: a review. **Grain & Oil Science and Technology**, v. 6, n. 4, p. 185–205, 2023.