

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

KIARA FARIA DE ASSIS

**PRODUÇÃO DE ÉSTERES FURFURÍLICOS POR CATÁLISE ENZIMÁTICA E
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COMO BIOPLASTIFICANTES EM FILMES DE
PVC**

**ALFENAS/MG
2026**

KIARA FARIA DE ASSIS

**PRODUÇÃO DE ÉSTERES FURFURÍLICOS POR CATÁLISE ENZIMÁTICA E
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COMO BIOPLASTIFICANTES EM FILMES DE
PVC**

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

Orientador: Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes

**ALFENAS/MG
2026**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

Assis, Kiara Faria de Assis.

Produção de ésteres furfurílicos por catálise enzimática e avaliação do desempenho como bioplastificantes em filmes de PVC / Kiara Faria de Assis Assis. - Alfenas, MG, 2026.

47 f. : il. -

Orientador(a): Adriano Aguiar Mendes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biotecnologia) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2026.

Bibliografia.

1. Bioplastificante. 2. Ésteres furfurílicos. 3. Lipase imobilizada. 4. PVC. I. Mendes, Adriano Aguiar, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

KIARA FARIA DE ASSIS

**PRODUÇÃO DE ÉSTERES FURFURÍLICOS POR CATÁLISE ENZIMÁTICA E
AVALIAÇÃO DO DESEMPENHO COMO BIOPLASTIFICANTES EM FILMES DE
PVC**

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

Aprovada em: 24 de junho de 2026

Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:  Documento assinado digitalmente
ADRIANO AGUIAR MENDES
Data: 02/07/2026 10:53:54-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Guilherme José Sabi
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:  Documento assinado digitalmente
GUILHERME JOSE SABI
Data: 02/07/2026 11:03:00-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Lucas Borges Matheus
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:  Documento assinado digitalmente
LUCAS BORGES MATHEUS
Data: 02/07/2026 11:57:47-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Dedico este trabalho aos meus pais, pelo apoio incondicional em cada etapa da minha vida, e a todos que acreditam no poder transformador da ciência e na sua capacidade de construir um futuro mais sustentável.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Alex e Carla, pelo amor incondicional e pelo apoio em cada etapa da minha vida. Tudo o que sou e tudo o que conquistei tem a marca de vocês. Esta vitória é nossa.

Ao Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes, pela orientação generosa, pela paciência, pela confiança e pelos ensinamentos que vão muito além da ciência. Obrigado por acreditar no meu potencial e por me guiar com tanto cuidado ao longo dessa jornada. Foi uma honra fazer parte do seu grupo de pesquisa.

Ao meu terapeuta, Lucas Gorgone, por me ajudar a me conhecer melhor, a lidar com os desafios dessa fase e a chegar até aqui de forma mais inteira. O seu trabalho fez toda a diferença na minha trajetória, dentro e fora da universidade.

Aos meus colegas do Laboratório de Catálise Enzimática, pela parceria nos experimentos, pelas risadas entre uma reação e outra, e por tornarem os dias no laboratório muito mais especiais. A caminhada seria muito mais difícil sem vocês.

Aos meus amigos, pelo carinho, pelo incentivo e por estarem sempre presentes, mesmo quando a rotina de pesquisa me fazia sumir. Vocês foram meu alívio e minha alegria ao longo dessa trajetória.

Aos amigos e família de Caxambu, pelo acolhimento e presença na minha vida. A cidade pequena que se tornou lar guarda também parte dessa conquista, construída nos momentos de descanso, afeto e leveza que vocês me proporcionaram ao longo dessa jornada.

Aos meus cachorros Koda, Romeu, Luna e Amora, por me receberem sempre com alegria, independentemente de como o dia foi. Nos momentos mais difíceis, um olhar de vocês foi suficiente para me lembrar de seguir em frente.

À memória do meu padrinho, Alexandre Trik, e do meu avô, José Marques, que partiram cedo demais, mas cujo amor, apoio e exemplo sempre estiveram comigo. Sei que estariam orgulhosos. Dedico este trabalho também a vocês.

RESUMO

Os plastificantes à base de ftalatos, amplamente empregados na indústria do poli (cloreto de vinila) (PVC), têm sido progressivamente restringidos pela legislação internacional devido aos seus efeitos adversos documentados sobre a saúde humana e o meio ambiente. Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo produzir ésteres furfurílicos por hidroesterificação enzimática de AGLs de óleo de soja residual com álcool furfurílico, empregando a lipase Eversa[®] Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada em quatro suportes hidrofóbicos, partículas de casca de arroz de granulometria fina (CAP) e grossa (CAG), sílica funcionalizada com grupos octil (SiO₂-Octil) e poli(estireno-divinilbenzeno) (PVB), e avaliar o desempenho frente a estabilidade de migração dos ésteres obtidos como bioplastificantes em filmes de PVC. A síntese foi conduzida em sistema isento de solventes orgânicos, razão molar AGLs:álcool furfurílico de 1:1, temperatura de 40 °C e agitação de 240 rpm. Todos os biocatalisadores promoveram conversões entre 72,2% e 82,9% em até 90 min, com o ET2.0-SiO₂-Octil apresentando a maior conversão (82,9%) e o ET2.0-CAP a maior produtividade (0,7 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ proteína). Os filmes de PVC plastificados com os ésteres furfurílicos (PVC-EF) foram submetidos a testes de migração em etanol 75% (v/v) como solvente. O PVC-EF exibiu migração de 24,04%, valor superior ao observado para o plastificante comercial DOF (5,76%), comportamento atribuído à maior polaridade do anel furânico, que favorece a interação com o solvente e facilita a liberação do plastificante da matriz polimérica. Esses resultados demonstram que os ésteres furfurílicos produzidos pela rota biocatalítica proposta apresentam potencial como alternativa renovável aos plastificantes convencionais, sendo a redução da migração em meios polares, por estratégias como epoxidação, uma perspectiva relevante para estudos futuros.

Palavras-chave: bioplastificante; ésteres furfurílicos; lipase imobilizada; PVC.

ABSTRACT

Phthalate-based plasticizers, widely used in the poly (vinyl chloride) (PVC) industry, have been progressively restricted by international regulations owing to their documented adverse effects on human health and the environment. In this context, the present study aimed to produce furfuryl esters via enzymatic hydroesterification of free fatty acids (FFAs) derived from residual soybean oil (RSO) with furfuryl alcohol, using Eversa® Transform 2.0 lipase (ET2.0) immobilized on four hydrophobic supports, such as fine-particle rice husk (FRH) and coarse-particle rice husk (CRH), octyl-functionalized silica (SiO₂-Octyl), and poly(styrene-divinylbenzene) (PVB), and to evaluate the migration stability of the resulting esters as bio-based plasticizers in PVC films. The synthesis was conducted in a solvent-free system at a 1:1 molar ratio (FFAs:furfuryl alcohol), 40 °C, and 240 rpm. All biocatalysts promoted FFA conversions between 72.2% and 82.9% within 90 min; ET2.0-SiO₂-Octyl achieved the highest conversion (82.9%), while ET2.0-FRH exhibited the highest productivity (0.7 μmol·min⁻¹·mg⁻¹ protein). PVC films plasticized with furfuryl esters (PVC-FE) were subjected to migration tests using 75% (v/v) ethanol as the simulant solvent. PVC-FE showed a migration of 24.04%, a value higher than that observed for the commercial plasticizer dioctyl phthalate (DOP) (5.76%), a behavior attributed to the higher polarity of the furan ring, which promotes interaction with the polar simulant and facilitates plasticizer release from the polymer matrix. These results demonstrate that the furfuryl esters produced via the proposed biocatalytic route hold potential as a renewable alternative to conventional plasticizers, and that reducing migration in polar media, through strategies such as epoxidation, represents a relevant direction for future studies.

Keywords: bio-based plasticizer; furfuryl esters; immobilized lipase; PVC.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação esquemática do mecanismo de hiperativação interfacial de lipases.....	24
Figura 2- Representação esquemática da reação de hidrólise enzimática do óleo de soja residual catalisada pela lipase de <i>Candida rugosa</i> (LCR) para a produção de ácidos graxos livres (AGLs) e glicerol	30
Figura 3 - Representação esquemática da reação de esterificação enzimática de ácidos graxos livres (AGLs) com álcool furfurílico catalisada pela lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada	32
Figura 4 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos suportes utilizados para imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0.	34
Figura 5 - Perfil cinético de consumo de ácidos graxos livres (AGLs) durante a esterificação com álcool furfurílico catalisada pelos biocatalisadores ET2.0-SiO ₂ -Octil, ET2.0-CAP, ET2.0-PVB e ET2.0-CAG	37
Figura 6 - Perda de massa média (%) dos filmes de PVC puro e plastificados submetidos ao ensaio de migração em etanol 75% (25 °C, 200 rpm, 72 h).....	39

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Caracterização dos biocatalisadores preparados: proteína imobilizada e atividade hidrolítica.....	35
Tabela 2- Desempenho dos biocatalisadores preparados na reação de esterificação de ácidos graxos livres (AGLs) com álcool furfurílico.....	37

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos Graxos Livres
AH	Atividade Hidrolítica
BBP	Butil Benzil Ftalato
BSA	Albumina Sérica Bovina
CAG	Casca de Arroz Granulometria Grande (partículas >120 mesh)
CAP	Casca de Arroz Granulometria Pequena (partículas <120 mesh)
DAG	Diacilglicerol
DEHP	Ftalato de Di(2-etilhexil)
DiBP	Ftalato de Diisobutil
DiNP	Ftalato de Diisononil
DnBP	Ftalato de Di-n-butil
DOF	Ftalato de Dioctil
ET2.0	Eversa [®] Transform 2.0
ET2.0-CAG	Lipase Eversa [®] Transform 2.0 imobilizada em casca de arroz granulometria grande
ET2.0-CAP	Lipase Eversa [®] Transform 2.0 imobilizada em casca de arroz granulometria pequena
ET2.0-PVB	Lipase Eversa [®] Transform 2.0 imobilizada em poli (estireno-divinilbenzeno)
ET2.0-SiO ₂ -Octil	Lipase Eversa [®] Transform 2.0 imobilizada em sílica funcionalizada com grupos octil
LCR	Lipase de Candida rugosa
MAG	Monoacilglicerol
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
OSR	Óleo de Soja Residual
P	Produtividade do biocatalisador ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ de proteína)
pH	Potencial Hidrogeniônico
PVC	Poli (cloreto de Vinila)
PVB	Poli (estireno divinilbenzeno)
REACH	Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals (Regulamento Europeu de Substâncias Químicas)
rpm	Rotações por Minuto
SiO ₂	Dióxido de Silício (Sílica)
SiO ₂ -Octil	Sílica funcionalizada com grupos octil

SMAP	Substâncias de Muito Alta Preocupação
TAG	Triacilglicerol
Tg	Temperatura de Transição Vítrea
THF	Tetrahidrofurano
U	Unidade de Atividade Enzimática (μmol de substrato convertido por minuto)
USD	Dólar Americano (do inglês, United States Dollar)

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
2	OBJETIVOS.....	15
3	REFERENCIAL TEÓRICO.....	16
3.1	PVC E PLASTIFICANTES: A ORIGEM DO PROBLEMA.....	16
3.2	BIOPLASTIFICANTES: A SOLUÇÃO RENOVÁVEL.....	18
3.3	ÉSTERES OLEOGENOSOS COMO BIOPLASTIFICANTES: O PAPEL DO ÓLEO DE SOJA RESIDUAL	20
3.4	MODIFICAÇÕES QUÍMICAS: A ESTRATÉGIA DE HIDROESTERIFICAÇÃO EM DUAS ETAPAS COM DUAS LIPASES	21
3.5	LIPASES	22
3.6	IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM SUPORTES HIDROFÓBICOS	25
3.7	SUPORTES UTILIZADOS	26
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	27
4.1	MATERIAIS	27
4.2	PREPARO DOS SUPORTES	28
4.2.1	<i>POLIESTIRENO-DIVINILBENZENO E SÍLICA COMERCIAL</i>	<i>28</i>
4.2.2	<i>CASCA DE ARROZ.....</i>	<i>28</i>
4.3	IMOBILIZAÇÃO DA EVERS [®] TRANSFORM 2.0 NOS SUPORTES HIDROFÓBICOS	29
4.3.1	<i>QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS PELO MÉTODO DE BRADFORD</i>	<i>29</i>
4.3.2	<i>ATIVIDADE HIDROLÍTICA.....</i>	<i>30</i>
4.4	SÍNTESE DE ÉSTERES FURFURÍLICOS.....	30
4.4.1	<i>PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE SOJA RESIDUAL</i>	<i>30</i>
4.4.2	<i>ESTERIFICAÇÃO DOS AGLs COM ÁLCOOL FURFURÍLICO.....</i>	<i>32</i>
4.5	PRODUÇÃO DE FILMES DE PVC	33
4.5.1	<i>MIGRAÇÃO</i>	<i>34</i>
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
5.1	CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS SUPORTES	34
5.2	CARACTERIZAÇÃO DOS BIOCATALISADORES	35
5.3	PRODUÇÃO DE ÉSTERES FURFURÍLICOS.....	36
5.4	TESTE DE MIGRAÇÃO EM FILMES DE PVC	39
6	CONCLUSÃO	41

1 INTRODUÇÃO

O poli (cloreto de vinila) (PVC) figura entre os termoplásticos de maior produção e consumo mundial, com aplicações que abrangem embalagens de alimentos, construção civil, dispositivos médicos, setor automotivo e brinquedos (ZHANG *et al.*, 2024). Em sua forma pura, contudo, o PVC é um polímero rígido e quebradiço, sendo necessária a adição de plastificantes para conferir flexibilidade e maleabilidade ao material. Historicamente, os ésteres ftálicos, denominados ftalatos, dominaram esse mercado, correspondendo a 80% do consumo global de plastificantes no período de 2025 a 2030 (MARKETSANDMARKETS, 2026). O principal representante dessa classe, o ftalato de dioctil, amplamente referido como DOF, é empregado em concentrações que podem atingir 50% em massa em formulações de PVC flexível (SABI *et al.*, 2025a).

A despeito de seu desempenho técnico consolidado, os ftalatos apresentam uma limitação estrutural crítica: por não estarem ligados covalentemente à matriz polimérica do PVC, migram progressivamente para o ambiente ao longo de todo o ciclo de vida do produto (BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022). Essa migração resulta na detecção de metabólitos de ftalatos em amostras biológicas de praticamente toda a população humana, incluindo urina, sangue e leite materno (CHANG *et al.*, 2021). Do ponto de vista toxicológico, os ftalatos são reconhecidos desreguladores endócrinos, associados a comprometimento reprodutivo, alterações no desenvolvimento fetal e estresse oxidativo em múltiplos tecidos (WANG; QIAN, 2021; PAN *et al.*, 2024). Em resposta a essas evidências, a União Europeia classificou os principais ftalatos como substâncias de muito alta preocupação pelo Regulamento Europeu de Substâncias Químicas (REACH), com concentração máxima permitida de 0,1% em massa em brinquedos e materiais em contato com alimentos (WIESINGER *et al.*, 2024).

Esse cenário regulatório e toxicológico impulsionou o desenvolvimento de uma nova geração de plastificantes derivados de fontes renováveis, denominados bioplastificantes (SABI *et al.*, 2025b). O mercado global de plastificantes atingiu USD 17,75 bilhões em 2024, com projeção de alcançar USD 28,64 bilhões até 2034, sendo os bioplastificantes o segmento de maior expansão dentro desse mercado, impulsionado pela demanda regulatória e pela pressão da indústria por alternativas mais seguras (PRECEDENCE RESEARCH, 2025; SABI *et al.*, 2025b). Entre as alternativas de maior interesse, destacam-se os ésteres furfurílicos, compostos em que ambos os componentes da molécula, o ácido e o álcool, são provenientes integralmente de biomassa. O componente ácido é obtido pela hidrólise enzimática de óleos vegetais, e o componente álcool, o álcool furfurílico, é produzido pela hidrogenação catalítica do furfural,

derivado da hemicelulose de resíduos lignocelulósicos agroindustriais como bagaço de cana-de-açúcar e casca de arroz (WOLNY *et al.*, 2024; MUKHERJEE *et al.*, 2024). Os ésteres furfurílicos apresentam baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade (SABI; MENDES, 2025; MUKHERJEE *et al.*, 2024), enquanto a presença de oxigênio no anel furânico aumenta a polarização da molécula e favorece interações com a matriz de PVC, contribuindo para a miscibilidade e compatibilidade do plastificante com o polímero (NGUYEN *et al.*, 2020).

A síntese desses ésteres por via enzimática, empregando lipases como biocatalisadores, confere ao processo vantagens adicionais em relação às rotas químicas convencionais: maior seletividade, condições brandas de temperatura e pressão, ausência de solventes orgânicos tóxicos e menor geração de subprodutos (RODRIGUES *et al.*, 2019). A estratégia de hidroesterificação, hidrólise enzimática completa do óleo em ácidos graxos livres seguida de esterificação com o álcool, é particularmente adequada para o álcool furfurílico, pois elimina as limitações difusionais associadas ao maior tamanho molecular dos triacilgliceróis e evita a formação de subprodutos glicéricos parciais (GUIMARÃES *et al.*, 2024; NETO *et al.*, 2025). A utilização do óleo de soja residual de fritura como matéria-prima introduz ainda uma dimensão adicional de sustentabilidade, alinhando o processo aos princípios da economia circular ao transformar um resíduo problemático em insumo de interesse industrial (SABI *et al.*, 2025a).

Nesse contexto, o presente trabalho propôs a produção de ésteres furfurílicos por hidroesterificação enzimática do óleo de soja residual com álcool furfurílico, empregando a lipase Eversa® Transform 2.0 imobilizada por adsorção física em quatro suportes hidrofóbicos de diferentes origens e morfologias: poli(estireno-divinilbenzeno) (PVB), sílica funcionalizada com grupos octil (SiO₂-Octil) e duas frações granulométricas de casca de arroz (CAP e CAG). Os ésteres obtidos foram avaliados como bioplastificantes em filmes flexíveis de PVC, comparando seu desempenho com o plastificante comercial de referência DOF, em formulações puras e em mistura binária, quanto às propriedades de migração.

2 OBJETIVOS

Produzir ésteres furfurílicos por hidroesterificação enzimática de óleo de soja residual com álcool furfurílico, empregando a lipase Eversa® Transform 2.0 imobilizada em suportes hidrofóbicos de diferentes origens e morfologias, e avaliar o potencial dos ésteres obtidos como bioplastificantes em filmes de PVC com base na resistência à migração em solvente.

Para alcançar esse objetivo, foram definidos os seguintes objetivos específicos:

a) Preparar e caracterizar quatro biocatalisadores pela imobilização da lipase Eversa[®] Transform 2.0 em poli(estireno-divinilbenzeno) (PVB), sílica funcionalizada com grupos octil (SiO₂-Octil) e duas frações granulométricas de partículas de casca de arroz (CAP e CAG), determinando a carga proteica e a atividade hidrolítica de cada preparação.

b) Produzir ésteres furfurílicos por hidroesterificação do óleo de soja residual em duas etapas sequenciais (hidrólise e esterificação), avaliando a cinética de conversão e a produtividade dos biocatalisadores.

c) Incorporar os ésteres furfurílicos em filmes de PVC e avaliar a resistência à migração do plastificante em etanol 75% (v/v) como solvente, comparando o percentual de migração com o do plastificante comercial de referência DOF.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 PVC E PLASTIFICANTES: A ORIGEM DO PROBLEMA

O poli (cloreto de vinila) (PVC) é um dos termoplásticos mais produzidos e consumidos mundialmente, ficando atrás apenas do polipropileno e do polietileno (ZHANG *et al.*, 2024). O mercado global de PVC foi estimado em USD 47,09 bilhões em 2025, com projeção de alcançar USD 80,23 bilhões até 2034, a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 6,1% (MARKET DATA FORECAST, 2026). Sua ampla adoção decorre da combinação de baixo custo de produção, versatilidade e durabilidade, que permitem seu uso em embalagens de alimentos, construção civil, dispositivos médicos, setor automotivo, elétrico e esportivo (SABI *et al.*, 2025a). No entanto, em sua forma pura, o PVC é um polímero intrinsecamente rígido e quebradiço, o que limita severamente sua aplicabilidade em formulações que exigem flexibilidade e maleabilidade (SEEWOO *et al.*, 2024; ZHANG *et al.*, 2024). Para contornar essa limitação, uma ampla variedade de aditivos é incorporada à matriz polimérica, sendo os plastificantes os mais funcionalmente relevantes (ZHAO *et al.*, 2024; BI *et al.*, 2021). Em formulações de PVC flexível, como filmes e revestimentos, a concentração de plastificantes pode atingir entre 30% e 50% em massa (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b).

Plastificantes são compostos orgânicos de baixa volatilidade, característica necessária para minimizar sua perda por evaporação e favorecer sua permanência na matriz polimérica durante o processamento e o uso (BOCQUÉ *et al.*, 2016), frequentemente líquidos incolores, que, quando incorporados à rede polimérica do PVC, aumentam a mobilidade das cadeias poliméricas ao reduzir as interações secundárias entre elas, resultando em redução da temperatura de transição vítrea (T_g) e ganhos em flexibilidade, ductilidade e processabilidade

(SABI *et al.*, 2025b). Historicamente, os ésteres ftálicos, ou ftalatos, dominam esse mercado: estima-se que correspondam a 80% do mercado global de plastificantes no período de 2025 a 2030, sustentados por seu baixo custo, estabilidade e elevado desempenho técnico (MARKETSANDMARKETS, 2026). Os ftalatos são sintetizados pela reação do anidrido ftálico, derivado de petróleo, com álcoois de cadeia variada, gerando compostos como o di(2-etilhexil) ftalato (DEHP), o di-n-butil ftalato (DnBP) e o diisononil ftalato (DiNP), entre outros (CHANG *et al.*, 2021). Em formulações de PVC para dispositivos médicos, o teor de DEHP pode atingir até 40% em massa, enquanto em pisos e revestimentos valores superiores a 30% são comuns (WIESINGER *et al.*, 2024; AN *et al.*, 2023).

A principal limitação dos ftalatos reside no fato de que eles não são ligados covalentemente à matriz polimérica do PVC, estando apenas fisicamente dispersos entre as cadeias, e por isso migram progressivamente para o ambiente ao longo de todo o ciclo de vida do produto, desde a fabricação até o descarte (BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022; AN *et al.*, 2023). Essa migração é intensificada por fatores como temperatura elevada, contato com alimentos gordurosos, saliva ou suor, e exposição a solventes, pois essas condições aumentam a mobilidade molecular e/ou favorecem a difusão e solubilização dos plastificantes, promovendo sua extração da matriz de PVC (LEE *et al.*, 2025; TANZER *et al.*, 2025; SABI *et al.*, 2025b). Como resultado, metabólitos de ftalatos foram detectados em amostras biológicas de praticamente toda a população humana, incluindo urina, sangue, leite materno e tecido adiposo, sendo as crianças o grupo mais vulnerável em razão de sua maior frequência de contato com brinquedos e materiais de PVC e de seu sistema imunológico ainda em desenvolvimento (CHANG *et al.*, 2021; WANG; QIAN, 2021). Entre os ftalatos mais amplamente produzidos e estudados destaca-se o di(2-etilhexil) ftalato (DEHP), frequentemente referido na literatura técnica e industrial pelo termo DOF, em razão da semelhança estrutural entre seus isômeros de octila (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b). Por sua ampla utilização industrial e seu estabelecido perfil toxicológico e de migração, o DOF é adotado como plastificante comercial de referência em estudos comparativos com bioplastificantes, função que também exerce no presente trabalho.

Estudos em modelos animais e estudos epidemiológicos humanos associam a exposição crônica a ftalatos a efeitos de desregulação endócrina, comprometimento reprodutivo e estresse oxidativo em múltiplos tecidos, comprometendo funções hepáticas, renais, pulmonares e do sistema reprodutor (CHANG *et al.*, 2021; WANG; QIAN, 2021; PAN *et al.*, 2024; BRASSEA-PÉREZ *et al.*, 2022).

Em resposta a essas evidências, regulamentações restritivas foram estabelecidas em diversas regiões. Na União Europeia, o DEHP, o DnBP, o diisobutil ftalato (DiBP) e o butil benzil ftalato (BBP) foram classificados como substâncias de muito alta preocupação (Substâncias de Muito Alta Preocupação - SMAP) pelo regulamento REACH, com concentração máxima permitida de 0,1% em massa em brinquedos, materiais em contato com alimentos e equipamentos elétricos e eletrônicos (WIESINGER *et al.*, 2024; CHAPON *et al.*, 2023). No entanto, a reciclagem de PVC sem controle químico adequado ainda reintroduz ftalatos em concentrações acima dos limites regulatórios em novos produtos, perpetuando a exposição (RAMUNGUL *et al.*, 2022). Esse contexto evidencia a necessidade urgente de desenvolvimento de plastificantes verdadeiramente seguros, de base renovável e biodegradáveis, capazes de substituir os ftalatos sem reproduzir seus riscos toxicológicos, cenário no qual os ésteres furfurílicos de base biomássica emergem como alternativa promissora, conforme detalhado na seção seguinte.

3.2 BIOPLASTIFICANTES: A SOLUÇÃO RENOVÁVEL

O contexto regulatório e toxicológico descrito na seção anterior impulsionou o desenvolvimento de uma nova geração de plastificantes derivados de fontes renováveis, coletivamente denominados bioplastificantes (HASSAN *et al.*, 2019; ALHANISH; ABU GHALIA, 2021). Em sentido amplo, bioplastificantes são compostos orgânicos de baixa volatilidade, obtidos a partir de biomassa vegetal ou de seus derivados, capazes de conferir ao PVC e a outros polímeros as mesmas propriedades funcionais dos plastificantes convencionais, como flexibilidade, ductilidade e processabilidade, com perfil toxicológico e ambiental significativamente mais favorável (MINALE *et al.*, 2025; ALHANISH; ABU GHALIA, 2021). O mercado global de plastificantes atingiu USD 17,75 bilhões em 2024 e projeta-se que alcance USD 28,64 bilhões até 2034, a uma taxa de crescimento anual de 5,9% (SABI *et al.*, 2025b), sendo os bioplastificantes o segmento de maior crescimento dentro desse mercado, impulsionado pela demanda regulatória e pela pressão da indústria por alternativas mais seguras.

Do ponto de vista estrutural, um plastificante eficiente para PVC deve apresentar três blocos funcionais essenciais: uma cadeia alifática suficientemente longa para intercalar-se entre as cadeias poliméricas, reduzindo suas interações secundárias do tipo dipolo-dipolo (δ^+)C–Cl(δ^-) e criando volume livre na rede; grupos éster, que atuam como blocos coesivos estabelecendo interações específicas com o polímero; e grupos cíclicos ou aromáticos polarizáveis, que funcionam como blocos compatibilizantes com a matriz de PVC (BOCQUÉ

et al., 2016). Além disso, a introdução de grupos polares adicionais, como grupos epóxi por meio de epoxidação das duplas ligações presentes nas cadeias graxas, potencializa essas interações, resultando em filmes com maior estabilidade térmica e melhor resistência à migração em simulantes polares (SABI et al., 2025a; HAN et al., 2023; NAJERA-LOSADA et al., 2024).

Bioplastificantes derivados de ácidos graxos vegetais reúnem essas características de forma natural: suas cadeias alifáticas longas e insaturadas fornecem flexibilidade à rede polimérica, enquanto as ligações éster conferem polaridade compatível com a matriz de PVC (BOCQUÉ et al., 2016; AKTER et al., 2024; DUTTA et al., 2021). Entre as alternativas mais estudadas, os ésteres epoxidados se destacam pela introdução de grupos funcionais oxirano que aumentam a compatibilidade com o PVC e reduzem a tendência à migração do plastificante, tendo como vantagem que, no caso dos ésteres furfurílicos não epoxidados avaliados neste trabalho, representa uma oportunidade natural de desenvolvimento futuro (SABI et al., 2025a; HAN et al., 2023).

Dentro desse panorama, os ésteres furfurílicos emergem como uma subclasse de especial interesse, por combinarem matéria-prima de origem 100% biomássica em ambas as partes da molécula: o componente ácido, derivado de óleos vegetais, e o componente álcool, o álcool furfurílico, obtido pela hidrogenação catalítica do furfural (WOLNY et al., 2024; MUKHERJEE et al., 2024). O furfural pode ser produzido a partir de frações hemicelulósicas de resíduos lignocelulósicos agroindustriais, como bagaço de cana-de-açúcar, palha de trigo e casca de arroz, por hidrólise ácida de xilanos seguida da desidratação de pentoses, principalmente xilose (ZHANG et al., 2017), sendo posteriormente convertido em álcool furfurílico por hidrogenação (WOLNY et al., 2024). Os ésteres furfurílicos resultantes apresentam baixa toxicidade e elevada biodegradabilidade; do ponto de vista estrutural, as ligações éster e a polaridade do anel furânico estabelecem interações favoráveis com os grupos polares da cadeia de PVC, conferindo compatibilidade com a matriz polimérica (MUKHERJEE et al., 2024; BOCQUÉ et al., 2016). Sua síntese por via enzimática, empregando lipases como biocatalisadores, confere ao processo um diferencial adicional de seletividade e sustentabilidade em relação às rotas ácidas convencionais, conforme detalhado nas seções seguintes.

3.3 ÉSTERES OLEOGENOSOS COMO BIOPLASTIFICANTES: O PAPEL DO ÓLEO DE SOJA RESIDUAL

Os óleos vegetais constituem uma das matérias-primas mais versáteis para a síntese de bioplastificantes, em razão de sua composição rica em triacilgliceróis (TAGs) contendo ácidos graxos de cadeia longa com diferentes graus de insaturação (SABI et al., 2022; AKTER et al., 2024). Esses ácidos graxos, predominantemente insaturados, fornecem as cadeias alifáticas flexíveis necessárias para intercalar-se entre as cadeias de PVC e reduzir suas interações secundárias, conferindo plasticidade à matriz polimérica (DUTTA et al., 2021; NAJERA-LOSADA et al., 2024). A presença de duplas ligações nessas cadeias oferece sítios reativos para modificações químicas posteriores, como a epoxidação, que introduz grupos oxirano capazes de estabelecer interações mais fortes com os grupos polares do PVC, aumentando a compatibilidade e a resistência à migração do plastificante (HAN et al., 2023; AKTER et al., 2024). O óleo de soja destaca-se nesse contexto por ser o de maior produção no Brasil, com composição rica em ácidos graxos de cadeia longa predominantemente insaturados e massa molecular média dos AGLs em torno de $278 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ (SABI et al., 2022).

A utilização do óleo de soja residual (OSR), proveniente de processos de fritura de alimentos, introduz uma dimensão adicional de sustentabilidade ao processo. O descarte inadequado de óleos de fritura representa um problema ambiental relevante: quando lançado em redes de esgoto, pode causar obstrução de tubulações e contaminação de corpos d'água; quando descartado sem aproveitamento, representa perda de um recurso com potencial de valorização significativo (FOO et al., 2021; SABI et al., 2022). Nesse sentido, a conversão do OSR em ésteres de alto valor agregado, como plastificantes para PVC, representa uma estratégia alinhada aos princípios da economia circular, transformando um resíduo problemático em insumo de interesse industrial (CARVALHO et al., 2021; KIM et al., 2021). Do ponto de vista econômico, o OSR apresenta custo de aquisição significativamente inferior ao do óleo refinado, uma vez que é coletado como subproduto de estabelecimentos alimentícios. Embora dispense as etapas industriais de refino e degomagem exigidas para os óleos virgens, o OSR pode requerer pré-tratamentos mínimos, como filtragem de resíduos sólidos e caracterização de sua composição em ácidos graxos e índice de acidez, antes de ser empregado em sistemas reacionais (SABI et al., 2022; MATTOS et al., 2023).

A estratégia de hidroesterificação adotada neste trabalho, consistindo na hidrólise completa dos TAGs do OSR em AGLs seguida de esterificação dos AGLs com álcool furfurílico, justifica-se pela necessidade de liberar os ácidos graxos da estrutura glicerídica antes da síntese do éster-alvo. A esterificação direta a partir de AGLs é mais favorável do que

a transesterificação direta do óleo com álcool furfurílico, pois elimina limitações difusionais associadas ao maior tamanho molecular dos TAGs no microambiente das lipases imobilizadas, além de evitar a formação de subprodutos glicerídicos parciais que dificultam a purificação do produto (GUIMARÃES *et al.*, 2024; NETO *et al.*, 2025). A justificativa detalhada dessa escolha, incluindo os critérios de seleção das lipases empregadas em cada etapa, é apresentada na seção seguinte.

3.4 MODIFICAÇÕES QUÍMICAS: A ESTRATÉGIA DE HIDROESTERIFICAÇÃO EM DUAS ETAPAS COM DUAS LIPASES

A síntese de ésteres a partir de óleos vegetais pode ser realizada por diferentes rotas químicas ou enzimáticas. A transesterificação de triacilgliceróis (TAGs) com um álcool de cadeia curta é a rota mais empregada industrialmente, especialmente na produção de biodiesel (RODRIGUES *et al.*, 2019). No entanto, a transesterificação de óleos com álcoois frequentemente demanda longos tempos reacionais e temperaturas elevadas para viabilizar a difusão dos reagentes até o microambiente ativo das lipases imobilizadas (BOLINA *et al.*, 2021).

A estratégia de hidroesterificação contorna essas dificuldades ao separar o processo em dois estágios com microambientes otimizados para cada reação. Na primeira etapa, os TAGs do óleo de soja residual (OSR) são completamente hidrolisados em ácidos graxos livres (AGLs) em meio aquoso, eliminando a estrutura glicerídica e o glicerol como subproduto. Na segunda etapa, os AGLs purificados são esterificados diretamente com álcool furfurílico em sistema isento de solventes orgânicos (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b). A principal vantagem dessa estratégia em relação à transesterificação é a eliminação do glicerol como competidor na etapa de esterificação, além de gerar um substrato, os AGLs, com composição química bem definida e menor massa molecular, o que favorece o acesso ao microambiente da lipase imobilizada (MONTEIRO *et al.*, 2023; GUIMARÃES *et al.*, 2024). A operação em sistema isento de solventes orgânicos, contendo apenas AGLs e álcool furfurílico, permite aumentar a concentração dos substratos no meio reacional e facilita a purificação dos produtos. Para favorecer termodinamicamente a formação dos ésteres, foram adotadas estratégias de remoção da água gerada como subproduto da esterificação, como o uso de reatores abertos que permitem a evaporação da água em temperatura moderada (SABI *et al.*, 2022; MATTOS *et al.*, 2023).

A escolha de duas lipases distintas, uma para cada etapa, fundamenta-se nas diferenças intrínsecas de especificidade e microambiente ótimo de operação de cada enzima. A lipase de *Candida rugosa* (LCR) é empregada na hidrólise aquosa por reunir características ideais para

essa etapa: é classificada como lipase não específica quanto à posição de hidrólise em triacilgliceróis, o que favorece a hidrólise completa da estrutura glicerídica (SABI *et al.*, 2025a; CARVALHO *et al.*, 2021). Sua faixa ótima de pH entre 6,0 e 8,0 e temperatura de 30–40 °C são compatíveis com sistemas aquosos, e sua alta afinidade pela interface água-óleo assegura elevada atividade catalítica mesmo sem adição de emulsificantes ou agentes tamponantes, simplificando o processo e reduzindo a geração de resíduos (CARVALHO *et al.*, 2021). Estudos do grupo de pesquisa demonstraram que a LCR solúvel promove a hidrólise completa do OSR em 180 min sob agitação orbital, gerando um concentrado de AGLs diretamente aplicável na etapa subsequente (CARVALHO *et al.*, 2021; SABI *et al.*, 2022).

A lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0), por sua vez, é empregada na etapa de esterificação por razões complementares e igualmente bem fundamentadas. Conforme detalhado na seção 3.5, as lipases apresentam mecanismo de ativação interfacial mediado pelo deslocamento da região denominada *lid*, que expõe o sítio ativo em interfaces hidrofóbicas. Esse comportamento não é exclusivo da ET2.0, uma vez que a lipase de *Candida rugosa* também apresenta estrutura associada à ativação interfacial. No presente processo, entretanto, a LCR foi empregada na etapa de hidrólise do óleo em sistema água/óleo, enquanto a ET2.0 foi selecionada para a esterificação dos AGLs em meio isento de solventes orgânicos, devido à sua elevada atividade em meios não aquosos e à possibilidade de estabilização por imobilização em suportes hidrofóbicos, nos quais a conformação aberta da lipase pode ser favorecida (SABI *et al.*, 2022; MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022). Estudos do grupo reportam que a ET2.0 imobilizada em suportes hidrofóbicos atinge conversões de AGLs superiores a 70% em sistemas isentos de solventes, com boa estabilidade operacional ao longo de múltiplos ciclos reacionais (MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2025a). A justificativa detalhada da escolha dessas lipases, incluindo os critérios de seleção para cada etapa, é apresentada na seção seguinte.

3.5 LIPASES

As lipases (triacilglicerol acilhidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas pertencentes à classe das serino-hidrolases, responsáveis pela catálise da hidrólise de ligações éster em triacilgliceróis na interface óleo-água (SCHMID; VERGER, 1998). São produzidas por uma ampla variedade de organismos, como microrganismos, plantas e animais, sendo as de origem microbiana as mais exploradas industrialmente, em razão de maior disponibilidade, estabilidade, diversidade catalítica e facilidade de produção e modificação genética (ABDELAZIZ *et al.*, 2025; EHTIATI; KHATAMI, 2025). Entre as fontes fúngicas mais utilizadas estão *Thermomyces lanuginosus*, *Candida antarctica* e *Rhizomucor miehei*, além da

levedura *Candida rugosa* (RODRIGUES et al., 2019; CHANDRA et al., 2020; ABDELAZIZ et al., 2025).

Em condições de excesso de água, as lipases catalisam a hidrólise progressiva de triacilgliceróis, com acumulação gradual de diacilgliceróis, monoacilgliceróis, glicerol e ácidos graxos livres; a proporção relativa de cada produto depende da extensão da conversão alcançada (RODRIGUES *et al.*, 2019). Em meio isento de água, o equilíbrio termodinâmico se desloca no sentido inverso, e essas enzimas passam a catalisar reações de síntese. Entre elas destacam-se: a esterificação, reação direta entre um ácido carboxílico e um álcool com formação de éster e água; a transesterificação, troca do grupo acila entre um éster e um álcool com geração de um novo éster; a interesterificação, redistribuição de ácidos graxos entre diferentes moléculas de triacilgliceróis; e a acidólise, substituição de um ácido graxo esterificado por um ácido graxo livre proveniente do meio reacional (BORNSCHEUER; KAZLAUSKAS, 2006; ALI *et al.*, 2023). Essa reversibilidade catalítica confere às lipases uma versatilidade singular entre as enzimas hidrolíticas, tornando-as úteis tanto para a obtenção de ácidos graxos livres quanto para a produção de ésteres de interesse industrial. Além disso, atuam com elevada especificidade regioseletiva, enantioseletiva e quimioseletiva, o que reduz a formação de subprodutos e simplifica as etapas de purificação do produto (RODRIGUES et al., 2019; CHANDRA et al., 2020; ABDELAZIZ et al., 2025).

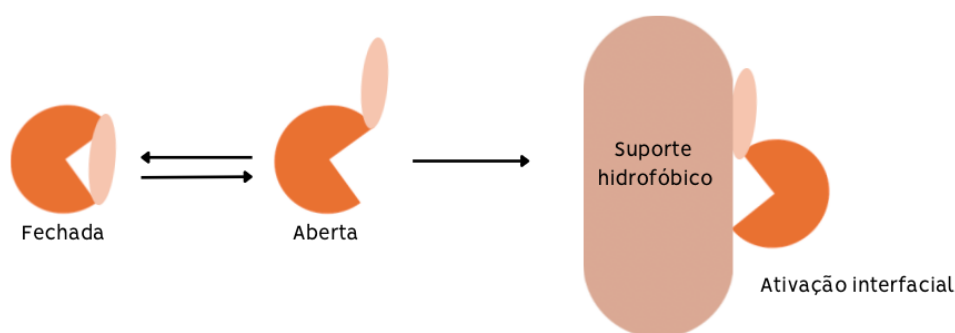
O mecanismo de ação das lipases em interfaces hidrofóbicas é regido por um fenômeno denominado ativação interfacial, descrito originalmente por Sarda e Desnuelle (1958) e elucidado estruturalmente por Brzozowski *et al.* (1991). Em solução aquosa, a maioria das lipases se encontra na chamada conformação fechada, na qual uma alça polipeptídica móvel denominada *lid* (tampa) recobre o sítio ativo, tornando-o inacessível ao substrato (RODRIGUES *et al.*, 2019). A *lid* é composta por resíduos de aminoácidos anfífilos: sua face interna, hidrofóbica, interage com as regiões que circundam o sítio ativo; sua face externa, hidrofílica, permanece em contato com o solvente aquoso (SCHMID; VERGER, 1998).

Na presença de uma interface hidrofóbica, como a superfície de gotas de óleo ou de suportes hidrofóbicos sólidos, ocorre a reorganização conformacional da *lid*, com exposição simultânea do sítio ativo. É por meio da face interna hidrofóbica da *lid* que a enzima adsorve à interface; o sítio ativo, por sua posição central nessa região, permanece acessível ao meio reacional (RODRIGUES *et al.*, 2019; MANOEL *et al.*, 2015). É exatamente esse mecanismo que fundamenta a estratégia de imobilização por adsorção em suportes hidrofóbicos utilizada neste trabalho: ao interagir com o suporte, a enzima é retida seletivamente na conformação

aberta, sem necessidade de tratamentos adicionais (BASTIDA *et al.*, 1998; RODRIGUES *et al.*, 2019).

O mecanismo de ativação interfacial e o processo de imobilização por adsorção em suporte hidrofóbico estão representados esquematicamente na Figura 1.

Figura 1- Representação esquemática do mecanismo de hiperativação interfacial de lipases. A enzima em conformação fechada entra em equilíbrio com a conformação aberta (ativa), na qual a tampa (lid) se desloca expondo o sítio ativo. Em superfícies hidrofóbicas, a conformação aberta é estabilizada por adsorção interfacial, favorecendo a imobilização da lipase em sua forma ativa.



Fonte: Elabora pela autora, adaptado de Rodrigues *et al.*, 2019.

Estudos recentes de dinâmica molecular demonstraram que as interações entre resíduos hidrofóbicos da *lid* e a fase oleosa são os principais determinantes dessa transição conformacional (LIANG *et al.*, 2023; WAGGETT; PFAENDTNER, 2024).

Do ponto de vista industrial, as lipases se destacam por operar em condições brandas de temperatura e pH, apresentar elevada seletividade catalítica e encontrar aplicação em áreas como alimentos, biocombustíveis, lubrificantes e síntese de ésteres com diversas finalidades industriais (ISMAIL *et al.*, 2021; ABDELAZIZ *et al.*, 2025).

A Eversa® Transform 2.0, lipase empregada neste trabalho, é uma variante geneticamente modificada derivada de *Thermomyces lanuginosus*, expressa heterologicamente em *Aspergillus oryzae* e comercializada pela Novozymes (Bagsværd, Dinamarca) na forma líquida solúvel (CARVALHO *et al.*, 2021). Originalmente desenvolvida para aplicação em processos industriais de produção de biodiesel, em que a enzima é empregada em sua forma livre solúvel, essa preparação enzimática de baixo custo tem demonstrado potencial em outros processos de síntese de ésteres após a sua imobilização em suportes sólidos, incluindo de ésteres

com diversas propriedades funcionais (CARVALHO *et al.*, 2021; MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022).

3.6 IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM SUPORTES HIDROFÓBICOS

O emprego de lipases na forma livre apresenta limitações relevantes para a viabilidade de processos industriais. A recuperação do biocatalisador ao final da reação exige etapas de separação complexas e frequentemente inviáveis em larga escala, impedindo o reuso da enzima e elevando o custo por ciclo de produção (BULLO *et al.*, 2024; ALMEIDA *et al.*, 2024). A estabilidade operacional das lipases solúveis frente a variações de temperatura, pH e presença de solventes orgânicos é também inferior à de preparações imobilizadas, o que limita sua aplicação nas condições mais severas comuns a processos industriais de síntese de ésteres (ISMAIL; BAEK, 2020; ENESPA *et al.*, 2022). A imobilização de lipases, sendo a associação da enzima a um suporte sólido insolúvel, contorna essas limitações ao viabilizar o reuso do biocatalisador por filtração ou centrifugação simples e ao aumentar sua estabilidade térmica e operacional, restringindo movimentos conformacionais que conduzem à inativação (BOLIVAR *et al.*, 2022; KOVÁCS-KOTOGÁN *et al.*, 2025). Do ponto de vista econômico, o biocatalisador imobilizado representa um ativo reutilizável que distribui o custo da enzima ao longo de múltiplos ciclos reacionais, tornando o processo competitivo em escala industrial (BOLIVAR *et al.*, 2022; GIRELLI; CHIAPPINI, 2023).

Para lipases especificamente, a adsorção em suportes hidrofóbicos em meio de baixa força iônica é o protocolo mais empregado, pois explora diretamente o mecanismo de ativação interfacial descrito na seção 3.5. Ao entrar em contato com a superfície hidrofóbica do suporte, a lipase reconhece essa superfície como uma interface óleo-água e assume a conformação aberta, ancorando-se por meio de sua extensa região hidrofóbica periférica ao sítio ativo, que permanece acessível ao meio reacional (ARANA-PENÑA *et al.*, 2021; MANOEL *et al.*, 2015). Esse processo constitui, em uma única etapa, a imobilização, a purificação seletiva, a estabilização e a hiperativação do biocatalisador (BASTIDA *et al.*, 1998; POTA *et al.*, 2021; KUANG *et al.*, 2023). A imobilização em suportes hidrofóbicos confere às lipases estabilidade operacional superior à da forma livre, permitindo o reuso do biocatalisador ao longo de múltiplos ciclos reacionais com manutenção significativa da atividade catalítica (RODRIGUES *et al.*, 2019; MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2022). Adicionalmente, o microambiente hidrofóbico ao redor do biocatalisador contribui para reduzir o acúmulo de água no interior do suporte durante a esterificação, deslocando o equilíbrio termodinâmico em

direção à formação dos produtos e favorecendo conversões mais elevadas em sistemas isentos de solventes (SABI *et al.*, 2022).

3.7 SUPORTES UTILIZADOS

O poli (estireno divinilbenzeno) (PVB) é um copolímero macroporoso de natureza acentuadamente apolar, produzido pela copolimerização de estireno e divinilbenzeno, cujas partículas esféricas de geometria uniforme apresentam área superficial elevada, da ordem de $500 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, e estrutura macroporosa que permite a imobilização da lipase tanto na superfície externa quanto no interior dos poros (RODRIGUES *et al.*, 2019; MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022). A elevada hidrofobicidade intrínseca do PVB elimina a necessidade de etapas de funcionalização química prévia, favorecendo diretamente a interação com a conformação aberta da lipase via ativação interfacial, o que confere ao material alta capacidade de carga proteica (RODRIGUES *et al.*, 2019; MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022). Cabe destacar que, apesar da elevada retenção de proteína, a imobilização preferencial da lipase no interior dos poros pode impor limitações difusionais ao acesso do substrato ao sítio ativo, aspecto que influencia diretamente a atividade catalítica do biocatalisador em reações de síntese (MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022). Estudos do grupo de pesquisa com a lipase Eversa[®] Transform 2.0 imobilizada em PVB demonstraram sua eficiência na síntese de ésteres com diversas propriedades funcionais em sistemas isentos de solventes (MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2022; SABI *et al.*, 2025a).

A sílica (SiO_2) é um suporte inorgânico amplamente utilizado em imobilização enzimática em razão de sua elevada área superficial, porosidade controlável e estabilidade química e mecânica em amplas faixas de pH e temperatura (RODRIGUES *et al.*, 2019). Em sua forma nativa, a superfície da sílica apresenta grupos silanol (Si-OH) que conferem caráter hidrofílico ao material, condição incompatível com a adsorção de lipases via ativação interfacial (RODRIGUES *et al.*, 2019). A funcionalização com octiltrietoxissilano substitui esses grupos por cadeias alifáticas apolares de oito carbonos, conferindo a hidrofobicidade superficial necessária para a interação seletiva com a conformação aberta da lipase (MACHADO *et al.*, 2019; SABI *et al.*, 2022). O menor tamanho de partícula da sílica funcionalizada em relação aos suportes lignocelulósicos favorece a difusão de substratos ao microambiente do biocatalisador, contribuindo para elevadas atividades catalíticas e conversões em reações de esterificação (GAMA *et al.*, 2019; SABI *et al.*, 2022).

A casca de arroz é um resíduo lignocelulósico gerado em larga escala no beneficiamento do arroz (*Oryza sativa*). Sua composição inclui frações de celulose (~32%), hemicelulose

(~21%), lignina (~21%) e sílica amorfa (~15%), sendo a lignina, um polímero aromático reticulado, insolúvel e hidrofóbico, a principal responsável pelo caráter hidrofóbico intrínseco da superfície do material (GIRELLI; CHIAPPINI, 2023). Essa hidrofobicidade natural permite o uso direto da casca como suporte para imobilização de lipases via ativação interfacial, após pré-tratamento ácido para remoção de impurezas solúveis, o que simplifica o processo e reduz o custo de preparação do biocatalisador (GAMA *et al.*, 2019; SABI *et al.*, 2025a). As partículas de casca de arroz apresentam morfologia irregular e baixa porosidade, de modo que a imobilização da lipase ocorre preferencialmente na superfície externa do material (SABI *et al.*, 2025a). Neste trabalho, foram avaliadas duas frações granulométricas: CAP (partículas inferiores a 120 mesh) e CAG (partículas superiores a 120 mesh), permitindo investigar a influência do tamanho de partícula sobre a capacidade de adsorção proteica, a atividade catalítica e a acessibilidade do substrato ao sítio ativo dos biocatalisadores preparados.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS

A lipase Eversa[®] Transform 2.0 (ET2.0), formulação enzimática líquida solúvel derivada de *Thermomyces lanuginosus* e expressa em *Aspergillus oryzae*, e a lipase de *Candida rugosa* (LCR), preparação enzimática na forma de pó liofilizado, foram adquiridas da Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, EUA). O poli(estireno-divinilbenzeno) (PVB; Diaion[®] HP-20) foi obtido da Supelco Analytical Products (Bellefonte, PA, EUA). A sílica comercial e o octiltrietoxissilano empregado em sua funcionalização, o álcool furfurílico e a resina de poli (cloreto de vinila) em pó (valor K de 55–57; massa molar média de 48.000 g·mol⁻¹; densidade de 1,4 g·mL⁻¹) foram adquiridos da Sigma-Aldrich Co. O di(2-etilhexil) ftalato (DOF) e o tetrahidrofurano (THF) foram igualmente adquiridos da Sigma-Aldrich Co. As cascas de arroz (*Oryza sativa*) foram doadas pela empresa Arroz Rei de Ouro Ltda. (Itajubá, MG, Brasil). O óleo de soja residual (OSR) foi coletado após utilização única para fritura de batatas em um restaurante localizado no município de Alfenas, MG, Brasil. Os demais reagentes e solventes orgânicos utilizados, incluindo ácido clorídrico, acetona, etanol, hidróxido de sódio, tampão acetato de sódio, tampão fosfato de sódio, goma arábica, azeite de oliva e fenolftaleína, foram de grau analítico e adquiridos da Synth[®] Ltda. (São Paulo, SP, Brasil).

4.2 PREPARO DOS SUPORTES

4.2.1 POLIESTIRENO-DIVINILBENZENO E SÍLICA COMERCIAL

O poli (estireno divinilbenzeno) (PVB) e a sílica comercial foram adquiridos comercialmente e foram diretamente empregados no protocolo de imobilização descrito no item 4.3. Porém, foi necessária uma etapa prévia de funcionalização química adicional para a sílica comercial para obtenção de sua forma hidrofóbica.

Dessa forma, a sílica foi submetida à funcionalização com grupamentos silanos de natureza hidrofóbica, conferindo ao suporte as características superficiais necessárias para a adsorção interfacial da lipase. Todo o procedimento foi conduzido em capela de exaustão.

Preparou-se uma mistura octil-silano/tolueno na proporção 1:10 (v/v), utilizando-se 20 mL dessa mistura por grama de sílica. A sílica e a mistura de funcionalização foram adicionadas sequencialmente a um balão de fundo redondo de 500 mL contendo pedras de porcelana. O sistema foi mantido sob refluxo a 120 °C por 4 h em manta de aquecimento, com a contagem do tempo iniciada após o surgimento das primeiras bolhas. Ao término, a manta foi desligada e o sistema resfriado. A sílica funcionalizada foi filtrada a vácuo e lavada sucessivamente com 200 mL de acetona, 200 mL de álcool etílico 95% e 200 mL de água destilada, visando à remoção do tolueno. O sólido resultante foi seco em estufa a 40 °C por 12 h.

Ressalta-se que sílicas armazenadas por período superior a dois dias foram submetidas a secagem em estufa a 50 °C por 12 h antes da etapa de funcionalização, visando à eliminação da umidade adsorvida, que poderia comprometer a qualidade da silanização e, conseqüentemente, a eficiência de imobilização enzimática.

4.2.2 CASCA DE ARROZ

O preparo dos suportes derivados de casca de arroz compreendeu um tratamento hidrotérmico ácido inicial, seguido de fracionamento granulométrico para obtenção das frações CAP e CAG. O protocolo foi adaptado de Gama *et al.* (2019).

Na primeira etapa, pesaram-se 30 g de casca de arroz, as quais foram transferidas para um balão de fundo redondo de 500 mL contendo pedras de porcelana. Adicionaram-se, em seguida, 400 mL de solução de ácido clorídrico a 35% (v/v). O sistema foi mantido sob refluxo a 120 °C por 2 h em manta de aquecimento, com a contagem do tempo iniciada a partir da observação das primeiras bolhas, indicativa do atingimento da temperatura de operação. Após o período de tratamento, a manta foi desligada e o sistema resfriado à temperatura ambiente. A casca de arroz foi então lavada exaustivamente com água destilada (aproximadamente 2 L)

sobre peneira, com o objetivo de remover resíduos ácidos e impurezas solúveis. O material lavado foi transferido para placa de Petri e seco em estufa a 80 °C por 24 h.

Na segunda etapa, parte do material seco foi submetida a moagem e, posteriormente a fracionamento granulométrico por trituração em moinho de facas seguida de peneiramento, obtendo-se duas frações distintas: partículas retidas >120 mesh (CAG) e partículas retidas em <120 mesh (CAP). Essas duas frações constituem suportes à base de casca de arroz e foram utilizadas diretamente na etapa de imobilização.

4.3 IMOBILIZAÇÃO DA EVERSA® TRANSFORM 2.0 NOS SUPORTES HIDROFÓBICOS

A imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0 nos suportes foi conduzida por adsorção física, explorando o fenômeno de ativação interfacial característico das lipases (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010; RODRIGUES *et al.*, 2019). A escolha da adsorção física se justifica por seu baixo custo e facilidade de preparo, além de possibilitar a hiperativação da lipase em conformação aberta sobre superfícies hidrofóbicas (SABI *et al.*, 2022; ALVES *et al.*, 2017).

A solução enzimática foi preparada em tampão acetato de sódio 5 mM, pH 5,0 (MACHADO *et al.*, 2019). Adotou-se a proporção suporte/solução enzimática de 1:20 (m/v), utilizando-se 1 g de suporte e 19 mL de solução enzimática, com carregamento inicial de 40 mg de proteína por grama de suporte.

Os ensaios foram realizados em frascos âmbar fechados, mantidos sob agitação orbital (shaker) a 200 rpm e 25 °C. Após 24h de contato, foi filtrado a vácuo, e o sólido obtido foi transferido para placa de Petri e mantido em refrigeração (4 °C) por 24 h para estabilização. Os biocatalisadores imobilizados foram então acondicionados em frascos hermeticamente fechados e armazenados sob refrigeração.

4.3.1 QUANTIFICAÇÃO DE PROTEÍNAS PELO MÉTODO DE BRADFORD

Antes do início da incubação, retirou-se uma alíquota da solução enzimática para determinação da concentração proteica inicial (C_0) pelo método de Bradford (Bradford, 1976). Ao término do período de imobilização, nova alíquota do sobrenadante foi coletada para determinação da concentração proteica remanescente (C_f). A quantidade de proteína efetivamente imobilizada foi calculada pela diferença entre as concentrações inicial e final do sobrenadante, expressando-se o resultado em mg de proteína por grama de suporte ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

4.3.2 ATIVIDADE HIDROLÍTICA

A atividade hidrolítica da lipase ET2.0 nas formas livre e imobilizada foi determinada pelo método da emulsão de azeite de oliva, conforme metodologia adaptada de Alves *et al.* (2017). A emulsão foi preparada pela mistura de 25 g de azeite de oliva, 2,25 g de goma arábica e 75 g de água destilada, sendo homogeneizada e mantida a 37 °C em banho termostatzado até o momento do uso. Os ensaios foram conduzidos em frascos Erlenmeyer de 125 mL contendo 5 g de emulsão e 5 mL de tampão fosfato de sódio (100 mmol/L, pH 8,0), aos quais foram adicionados 0,1 g de amostra enzimática. Os sistemas foram incubados a 37 °C, 200 rpm, por 5 minutos em agitador orbital termostatzado. A reação foi interrompida pela adição de 10 mL de etanol (92,5% v/v), seguida de titulação com solução de NaOH (~0,03 mol/L) empregando fenolftaleína como indicador. Um ensaio controle foi conduzido em paralelo, substituindo-se a amostra enzimática por tampão. A atividade hidrolítica (AH) foi calculada conforme a equação abaixo:

$$AH \left(\frac{IU}{g} \right) = \frac{(V_s - V_c) \times M \times 10^3}{t \times m}$$

Em que: *AH* é a atividade hidrolítica (U/g); *V_s* e *V_c* são os volumes de NaOH gastos para titular a amostra e o controle, respectivamente (mL); *M* é a concentração molar de NaOH (mol/L); *t* é o tempo de reação (min); e *m* é a massa do biocatalisador (g). Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima capaz de liberar 1 µmol de ácido graxo por minuto, nas condições do ensaio.

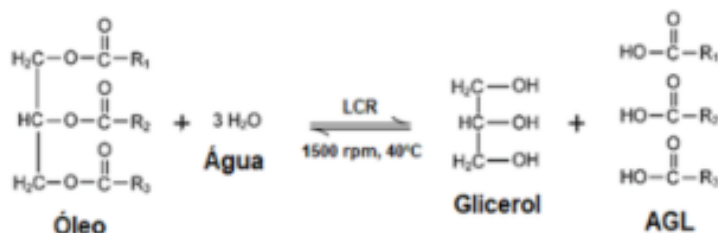
4.4 SÍNTESE DE ÉSTERES FURFURÍLICOS

4.4.1 PRODUÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES POR HIDRÓLISE ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE SOJA RESIDUAL

A síntese de ésteres furfurílicos foi conduzida em duas etapas. Na primeira etapa foi realizada a hidrólise do óleo de soja residual (OSR) empregando a lipase de *Candida rugosa* (LCR) solúvel como biocatalisador para a produção de ácidos graxos livres (AGLs), conforme representado na Figura 2.

Figura 2- Representação esquemática da reação de hidrólise enzimática do óleo de soja residual catalisada pela lipase de Candida rugosa (LCR) para a produção de ácidos graxos livres (AGLs) e glicerol. Condições reacionais: 40% (m/m) de óleo, 40 °C, 1500 rpm,

concentração de LCR de $3,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.



Fonte: Carvalho *et al.*, 2021

A etapa de hidrólise enzimática do óleo de soja residual (OSR) tem como objetivo a liberação completa dos ácidos graxos esterificados na estrutura do triacilglicerol (TAG), gerando um concentrado de ácidos graxos livres (AGLs) que servirá como substrato para a etapa subsequente de esterificação. A hidrólise de TAGs catalisada por lipases ocorre na interface óleo-água, podendo gerar diacilglicerol (DAG) e monoacilglicerol (MAG) como intermediários parciais antes da liberação completa dos AGLs e do glicerol, a depender da especificidade posicional da enzima empregada (MATTOS *et al.*, 2023).

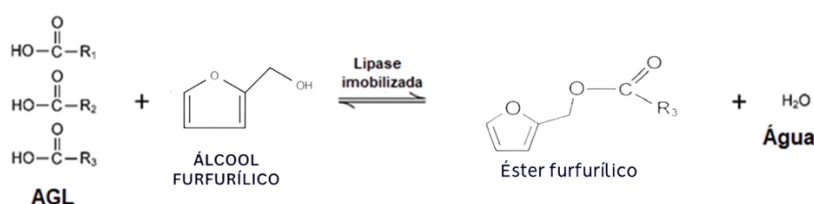
A lipase de *Candida rugosa* (LCR) foi selecionada para essa etapa por reunir características particularmente favoráveis à hidrólise completa do óleo. Trata-se de uma lipase não específica quanto à posição de hidrólise no triacilglicerol, característica que evita o acúmulo de glicerídeos parciais (MAGs e DAGs) e favorece a conversão completa dos TAGs em AGLs e glicerol (MATTOS *et al.*, 2023; SABI *et al.*, 2025a; CARVALHO *et al.*, 2021). Sua faixa ótima de atividade, entre pH 6,0–8,0 e temperatura de 30–40 °C, é compatível com sistemas aquosos, e sua elevada afinidade pela interface óleo-água assegura atividade catalítica satisfatória mesmo na ausência de agentes emulsificantes ou tamponantes, o que simplifica o processo e reduz a geração de resíduos (CARVALHO *et al.*, 2021).

Estudos prévios do grupo de pesquisa validaram esse protocolo de hidrólise isento de aditivos para o óleo de soja: empregando LCR sob agitação mecânica vigorosa (1500 rpm), responsável por reduzir a coalescência das gotículas de óleo e manter uma área interfacial adequada à atuação da enzima, a hidrólise completa do óleo de soja foi obtida em 180 min de reação, com cerca de 98% de conversão (SABI *et al.*, 2022; MATTOS *et al.*, 2023). Uma vez obtido o concentrado de AGLs, este foi empregado diretamente como substrato na etapa subsequente de esterificação com álcool furfurílico, conduzida em sistema isento de solventes orgânicos e catalisada por uma segunda lipase, conforme detalhado a seguir.

4.4.2 ESTERIFICAÇÃO DOS AGLs COM ÁLCOOL FURFURÍLICO

Os AGLs obtidos foram empregados diretamente como matéria-prima na segunda etapa, sendo a esterificação dos AGLs com álcool furfurílico em meio isento de solvente, conforme representado na Figura 3.

Figura 3 - Representação esquemática da reação de esterificação enzimática de ácidos graxos livres (AGLs) com álcool furfurílico catalisada pela lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada, com formação de ésteres furfurílicos e água como coproduto. R₁, R₂ e R₃ representam as cadeias carbônicas dos ácidos graxos derivados do óleo de soja.



Fonte: Adaptado de Carvalho *et al.*, 2021

Os sistemas reacionais foram compostos por 8 g de substratos na razão molar de 1:1 (AGLs:álcool furfurílico) e conduzidos em frascos de vidro abertos, imersos em banho termostatizado orbital a 40 °C sob agitação de 240 rpm; essas condições foram adotadas com base em metodologia previamente descrita por Carvalho *et al.* (2021) e adaptada para a síntese dos ésteres furfurílicos. A utilização de reatores abertos visa à evaporação contínua da água gerada durante a esterificação, deslocando o equilíbrio reacional em favor da formação dos ésteres (Carvalho *et al.*, 2021). Os quatro biocatalisadores foram avaliados individualmente, adotando-se um carregamento de 5 mg de proteína imobilizada por grama de meio reacional, correspondendo a 0,50 g de ET2.0-CAP, 0,59 g de ET2.0-CAG, 0,26 g de ET2.0-SiO₂-Octil e 0,15 g de ET2.0-PVB por grama de meio reacional.

O monitoramento das reações foi realizado por coleta periódica de alíquotas de 300 µL nos tempos de 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 90, 120 e 240 min. Cada alíquota foi diluída em 10 mL de mistura etanol:acetona 1:1 (v/v) e titulada com solução de NaOH 40 mmol·L⁻¹ empregando fenolftaleína como indicador. A conversão de AGLs (%) foi calculada conforme a equação abaixo:

$$\text{Conversão de AGLs(\%)} = \frac{[\text{AGL}]_0 - [\text{AGL}]_t}{[\text{AGL}]_0} \times 100$$

Em que: [AGL]₀ e [AGL]_t representam as concentrações de AGLs no início da reação e no tempo *t*, respectivamente (mmol·L⁻¹). Ensaios controle foram conduzidos em paralelo nas

mesmas condições, substituindo-se o biocatalisador pelos suportes sem enzima imobilizada, e nenhum consumo de AGLs foi detectado sob tais condições.

A partir dos dados de conversão obtidos, calculou-se também a produtividade de cada biocatalisador (P), parâmetro que expressa a quantidade de AGLs convertidos por unidade de tempo e por miligrama de proteína imobilizada, permitindo comparar o desempenho catalítico dos biocatalisadores de forma independente da quantidade de enzima utilizada (SABI *et al.*, 2025a). A produtividade foi determinada conforme a equação abaixo:

$$P = \frac{[AGL]_0 \times X}{t_{eq} \times m_{proteína}}$$

Em que: P é a produtividade ($\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína); $[AGL]_0$ é a concentração inicial de ácidos graxos livres ($\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$); X é a conversão de AGLs no tempo de equilíbrio (adimensional); t_{eq} é o tempo necessário para atingir o equilíbrio reacional (min); e $m_{proteína}$ é a massa de proteína imobilizada por grama de meio reacional ($\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$).

4.5 PRODUÇÃO DE FILMES DE PVC

Os filmes flexíveis de poli (cloreto de vinila) foram preparados pelo método *casting* (moldagem por evaporação de solvente), conforme metodologia adaptada de Sabi *et al.* (2025a) e Sabi *et al.* (2025b). Inicialmente, 2,4 g de resina de PVC em pó e 0,8 g de plastificante foram introduzidos em frascos de vidro de 100 mL, aos quais foram adicionados 54 mL de tetrahidrofurano (THF) para solubilização dos materiais. A solução foi mantida sob agitação magnética constante a 500 rpm e 25 °C por 30 minutos. Em seguida, 6 mL da solução resultante foram transferidos para placas de Petri de 9 cm de diâmetro em capela de exaustão. Os sistemas permaneceram por 48 h a 25 °C em repouso para completa evaporação do solvente e formação da rede polimérica. Após este período, os filmes foram armazenados em embalagens de papel manteiga para posterior utilização.

Foram avaliadas três formulações de plastificante: (i) ésteres furfurílicos puros (0,8 g); (ii) di(2-etilhexil) ftalato (DOF) puro (0,8 g), empregado como referência comercial; (iii) mistura de ésteres furfurílicos e DOF na proporção de 50% em massa de cada componente (0,4 g de ésteres furfurílicos + 0,4 g de DOF); e (iv) o controle, sendo o PVC puro. Adicionalmente, foram preparados filmes sem plastificante como controle negativo, obtidos pela dissolução de 3,2 g de PVC em pó em 54 mL de THF nas mesmas condições descritas acima (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b).

4.5.1 MIGRAÇÃO

Os testes de migração foram realizados empregando no meio de solução de etanol a 75% (v/v), conforme metodologia adaptada de Sabi *et al.* (2025b). Os filmes foram previamente pesados e transferidos para frascos de vidro fechados com capacidade de 100 mL, contendo 30 mL de etanol 75%. O sistema foi imerso em banho termostatizado orbital a 25 °C sob agitação orbital constante de 200 rpm. Após 72 h de contato, os filmes foram removidos dos frascos e secos em estufa a 30 °C por 24 h. A variação de massa antes e após o processo de extração foi determinada em balança analítica e expressa como percentual de perda de massa (%), conforme a equação:

$$Migração(\%) = \frac{m_i - m_f}{m_i} \times 100$$

Em que: m_i é a massa inicial do filme (g) e m_f é a massa final do filme após o processo de extração e secagem (g) (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

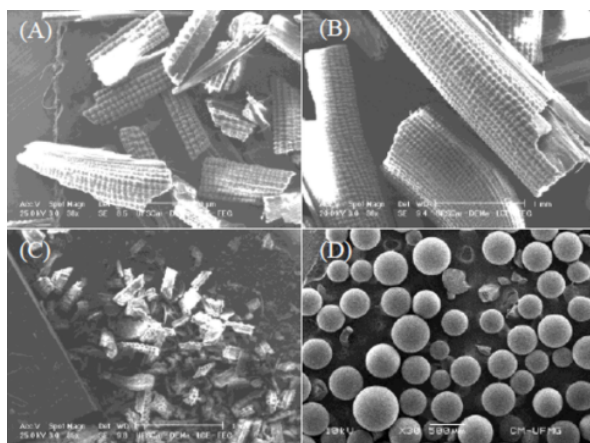
5.1 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA DOS SUPORTES

A morfologia dos suportes utilizados para a imobilização da lipase ET2.0 foi avaliada por microscopia eletrônica de varredura (MEV), técnica amplamente empregada para a visualização e análise da superfície de materiais sólidos (Mohamad *et al.*, 2015). As imagens obtidas para os quatro suportes estudados são apresentadas na Figura 4.

As partículas de casca de arroz, tanto as de granulometria pequena (CAP, <120 Mesh) quanto as de granulometria grande (CAG, >120 Mesh), apresentaram morfologia irregular e superfície com baixa porosidade. Em razão dessas características, espera-se que a adsorção da ET2.0 nesses suportes ocorra preferencialmente na superfície externa das partículas. A diferença de granulometria entre CAP e CAG sugere que o suporte CAP possui maior área superficial por unidade de massa, o que pode favorecer uma maior interação suporte-enzima e, consequentemente, influenciar o desempenho catalítico do biocatalisador resultante.

Figura 4 - Imagens de microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos suportes utilizados para imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0: partículas de casca de arroz pequenas (CAP) (A), partículas de casca de arroz grandes (CAG) (B), sílica funcionalizada com grupos octil (SiO₂-Octil) (C) e poli(estireno)-divinilbenzeno (PVB) (D). Imagem (D)

adaptada de MIGUEL *et al.* (2022).



Fonte: SABI e MENDES, 2025

As partículas de SiO₂-Octil apresentaram tamanho de partícula inferior ao das cascas de arroz, com superfície funcionalizada com grupos octil de caráter hidrofóbico. Essa hidrofobicidade superficial favorece a adsorção da lipase na sua conformação aberta, fenômeno denominado hiperativação interfacial, no qual a tampa ("lid") da lipase se desloca, expondo o sítio ativo e aumentando a atividade catalítica em meios orgânicos (Sabi *et al.*, 2022). As partículas de poli(estireno)-divinilbenzeno (PVB), por sua vez, exibiram morfologia esférica e uniforme, com presença de poros bem definidos. Essa estrutura porosa favorece tanto a imobilização da lipase na superfície interna do suporte quanto a interação suporte-enzima, conferindo ao PVB uma elevada capacidade de adsorção proteica (MIGUEL *et al.*, 2022).

5.2 CARACTERIZAÇÃO DOS BIOCATALISADORES

Os biocatalisadores preparados foram caracterizados quanto à carga proteica imobilizada e à atividade hidrolítica residual, cujos resultados são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1- Caracterização dos biocatalisadores preparados: proteína imobilizada e atividade hidrolítica. O processo de imobilização foi conduzido em tampão acetato de sódio pH 5,0 (5 mmol·L⁻¹), com carga proteica inicial de 40 mg de proteína por grama de suporte.

Suportes	Proteína imobilizada	Atividade hidrolítica
Imobilizados	(mg·g ⁻¹)	(U·g ⁻¹)
ET2.0-CAP	9,9 ± 1,1	509,2 ± 9,2
ET2.0-CAG	8,4 ± 1,21	369,2 ± 17,8
ET2.0- SiO ₂ -Octil	19,1 ± 0,4	845,8 ± 16,1
ET2.0-PVB	31,8 ± 0,5	158,0 ± 1,9

Fonte: Elaborado pela autora.

O biocatalisador ET2.0-PVB apresentou a maior carga proteica imobilizada ($31,8 \pm 0,5 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), valor que pode ser atribuído à elevada hidrofobicidade superficial e à alta área superficial do PVB ($\sim 500 \text{ m}^2\cdot\text{g}^{-1}$), características que favorecem intensamente a adsorção interfacial da lipase (MIGUEL *et al.*, 2022). O biocatalisador ET2.0-SiO₂-Octil apresentou concentração de proteína imobilizada intermediária ($19,1 \pm 0,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$), enquanto os suportes de casca de arroz, ET2.0-CAP e ET2.0-CAG, exibiram os menores valores ($9,9 \pm 1,1$ e $8,4 \pm 1,21 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$, respectivamente). Esses resultados estão diretamente relacionados ao grau de hidrofobicidade de cada suporte: quanto mais hidrofóbica a superfície, maior a afinidade pela conformação aberta da lipase e, conseqüentemente, maior a quantidade de proteína adsorvida, mecanismo característico da hiperativação interfacial (Tabela 1) (Sabi *et al.*, 2022).

Em relação à atividade hidrolítica, o ET2.0-SiO₂-Octil destacou-se com o maior valor obtido ($845,8 \pm 16,1 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$), indicando que a funcionalização da sílica com grupos octil promoveu a imobilização da lipase com o sítio ativo amplamente acessível ao substrato, tendendo a uma imobilização na superfície externa do suporte. Os biocatalisadores de casca de arroz apresentaram atividades intermediárias, sendo que o ET2.0-CAP exibiu atividade 27% superior ao ET2.0-CAG ($502,2 \pm 9,2$ vs $369,2 \pm 17,8 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$). Esse comportamento pode ser explicado pelo menor tamanho de partícula do CAP em relação ao CAG, o que implica maior área superficial disponível e, portanto, maior acessibilidade do substrato ao microambiente catalítico.

O ET2.0-PVB, apesar de ter apresentado a maior carga proteica, exibiu a menor atividade hidrolítica entre todos os biocatalisadores preparados ($158,0 \pm 1,9 \text{ U}\cdot\text{g}^{-1}$). Esse comportamento aparentemente contraditório pode ser explicado pela preferencial adsorção da ET2.0 na superfície interna dos poros do PVB, que dificulta o contato entre as gotículas do substrato emulsificado e o sítio ativo da enzima, gerando uma limitação difusional pronunciada no ensaio de atividade hidrolítica (MIGUEL *et al.*, 2022). Esse resultado reforça que carga proteica elevada não é, por si só, garantia de alta atividade catalítica, a acessibilidade do sítio ativo ao substrato é igualmente determinante para o desempenho do biocatalisador.

5.3 PRODUÇÃO DE ÉSTERES FURFURÍLICOS

A aplicação dos biocatalisadores preparados na reação de esterificação dos ácidos graxos livres (AGLs) com álcool furfurílico foi avaliada em termos de perfil cinético de consumo de AGLs, conversão final, tempo de reação necessário para atingir o equilíbrio reacional e produtividade do processo. O perfil cinético de cada biocatalisador é apresentado

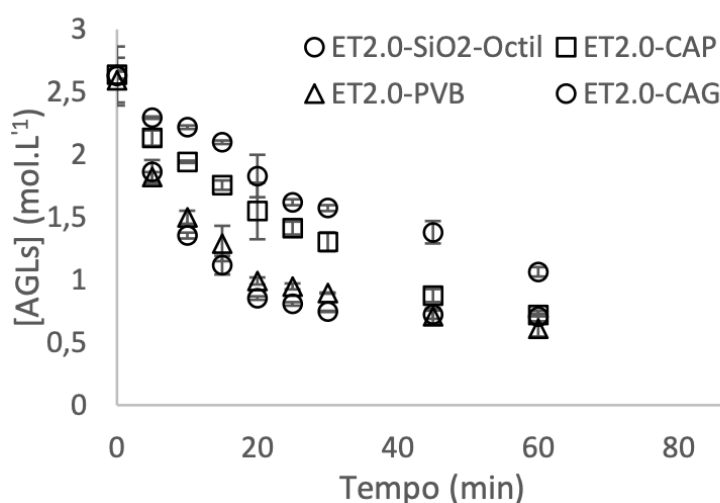
na Figura 5, e os parâmetros de desempenho são consolidados na Tabela 2.

Tabela 2- Desempenho dos biocatalisadores preparados na reação de esterificação de ácidos graxos livres (AGLs) com álcool furfurílico. As reações foram conduzidas com razão molar 1:1 (AGLs:álcool furfurílico), carregamento de 5 mg de proteína por grama de meio reacional, temperatura de 40 °C e agitação orbital de 240 rpm.

Suportes Imobilizados	Conversão dos AGLs (%)	Tempo de reação (min)	Produtividade ($\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mg}^{-1}$ de proteína)
ET2.0-CAP	73,2	60	0,7
ET2.0-CAG	72,2	90	0,5
ET2.0- SiO ₂ -Octil	82,9	90	0,5
ET2.0-PVB	81,1	90	0,5

Fonte: Elaborado pela autora.

Figura 5 - Perfil cinético de consumo de ácidos graxos livres (AGLs) durante a esterificação com álcool furfurílico catalisada pelos biocatalisadores ET2.0-SiO₂-Octil, ET2.0-CAP, ET2.0-PVB e ET2.0-CAG. Condições reacionais: razão molar AGLs:álcool furfurílico de 1:1, carregamento de 5 mg de proteína·g⁻¹ de meio reacional, 40 °C, 240 rpm, sistema isento de solventes orgânicos. Os valores representam média $\pm$ desvio padrão de triplicatas.



Fonte: SABI e MENDES, 2025

Todos os biocatalisadores promoveram a conversão dos AGLs, com valores finais entre 72,2% e 82,9%, indicando o deslocamento do equilíbrio reacional em direção à formação dos ésteres furfurílicos. O biocatalisador ET2.0-SiO₂-Octil apresentou a maior conversão (82,9%), resultado consistente com sua elevada atividade hidrolítica (Tabela 1), com a maior

acessibilidade do sítio ativo da lipase promovida pela funcionalização hidrofóbica do suporte (Sabi *et al.*, 2022). O ET2.0-PVB alcançou conversão similar (81,1%) em 90 min; embora sua atividade hidrolítica fosse consideravelmente inferior, esse comportamento pode ser atribuído à elevada carga proteica imobilizada nesse suporte, que compensa parcialmente a limitação difusional imposta pela estrutura porosa do PVB (MIGUEL *et al.*, 2022). Além disso, na etapa de esterificação, os substratos empregados (AGLs e álcool furfurílico) apresentam maior facilidade de acesso ao interior dos poros do biocatalisador quando comparados às gotículas de óleo presentes no ensaio de atividade hidrolítica, o que pode reduzir o impacto das limitações difusionais sobre a conversão final (MIGUEL JÚNIOR *et al.*, 2024; SABI; MENDES, 2025). Os biocatalisadores de casca de arroz apresentaram as menores conversões finais (73,2% para ET2.0-CAP e 72,2% para ET2.0-CAG), possivelmente em razão da menor partição do substrato hidrofóbico ao microambiente desses suportes, de natureza menos hidrofóbica em relação ao PVB e à SiO₂-Octil.

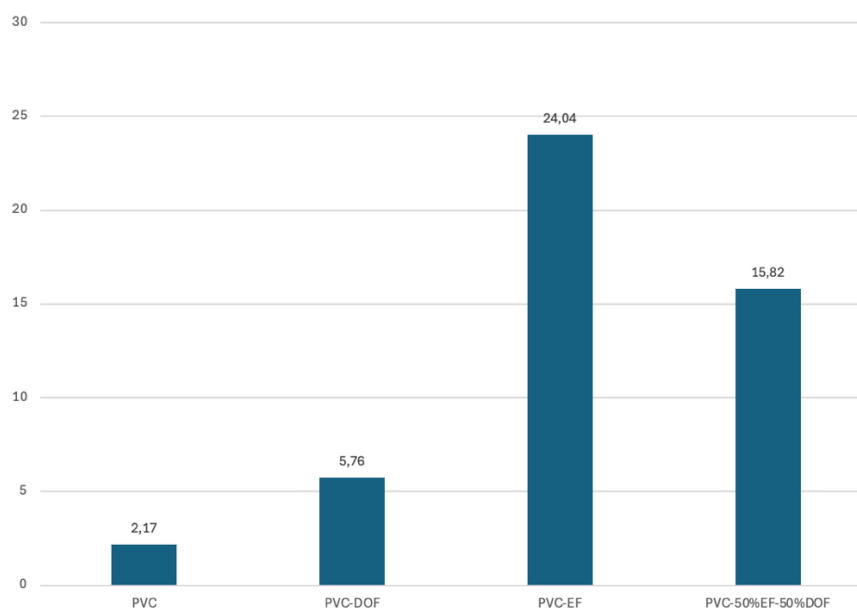
Como observado na Figura 5, o ET2.0-SiO₂-Octil e o ET2.0-PVB destacaram-se pela elevada velocidade inicial de reação, consumindo 71,9% e 66,1% dos AGLs nos primeiros 30 min, respectivamente, o que reflete a maior acessibilidade ao sítio ativo da lipase nesses sistemas. Em contraste, o ET2.0-CAP e o ET2.0-CAG exibiram velocidade inicial menor (50,6% e 40,3% em 30 min), possivelmente em razão da menor partição do substrato ao microambiente dos suportes de casca de arroz. Após 90 min, todos os sistemas convergiram para o equilíbrio reacional.

A produtividade, parâmetro que integra simultaneamente a conversão obtida, o tempo necessário para atingi-la e o carregamento de biocatalisador empregado, destacou o ET2.0-CAP como o sistema mais eficiente (0,7 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína), em razão de ter alcançado conversão expressiva (73,2%) em apenas 60 min, sendo o menor tempo de equilíbrio entre todos os sistemas estudados. Os demais biocatalisadores apresentaram produtividade próxima de 0,5 $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1}$ de proteína, associada a um tempo de equilíbrio de 90 min. Essa diferença pode estar relacionada à limitação difusional do substrato ao interior dos poros do PVB e da SiO₂-Octil, que retarda a taxa de conversão inicial mesmo nesses sistemas de alta atividade hidrolítica (Alves *et al.*, 2017). Esses resultados evidenciam que a casca de arroz, além de ser um resíduo agroindustrial de baixo custo e ampla disponibilidade no Brasil, representa uma alternativa biocatalítica competitiva para a produção sustentável de ésteres furfurílicos.

5.4 TESTE DE MIGRAÇÃO EM FILMES DE PVC

Os ensaios de migração foram conduzidos em solução de etanol 75% a 25 °C, 200 rpm por 72 h, com o objetivo de avaliar a estabilidade dos plastificantes no interior da matriz de PVC em contato com um meio simulante aquoso-alcoólico. Esse solvente é amplamente utilizado em estudos de migração de plastificantes por sua capacidade de penetrar a rede polimérica do PVC por difusão, favorecendo a solubilização e extração dos plastificantes da matriz (SABI *et al.*, 2025b). É importante ressaltar, contudo, que o presente estudo empregou um único solvente de migração de caráter hidroalcoólico, o que constitui uma limitação metodológica relevante: uma avaliação abrangente do comportamento migratório de plastificantes em filmes de PVC requer o uso de simulantes com diferentes polaridades, como água destilada e soluções oleosas, conforme recomendado por normas internacionais de migração (SABI *et al.*, 2025b; LEE *et al.*, 2025). Os resultados aqui apresentados devem, portanto, ser interpretados como um estudo exploratório do comportamento migratório dos ésteres furfurílicos em meio aquoso-alcoólico, e não como uma avaliação definitiva de sua adequação para aplicações em contato com alimentos. Os resultados de perda de massa média são apresentados na Figura 6.

Figura 6 - Perda de massa média (%) dos filmes de PVC puro e plastificados submetidos ao ensaio de migração em etanol 75% (25 °C, 200 rpm, 72 h). PVC-EF: plastificado com ésteres furfurílicos; PVC-DOF: plastificado com dioctil ftalato; PVC-50%Ef-50%DOF: plastificado com mistura equimássica de ésteres furfurílicos e dioctil ftalato.



Fonte: Elaborado pela autora.

O filme de PVC puro apresentou a menor perda de massa (2,17%), valor atribuído à extração de pequenas moléculas residuais da matriz polimérica, como moléculas de HCl liberadas durante a desidrocloração do PVC, e não à migração de plastificantes (SABI *et al.*, 2025b). O filme PVC-DOF, plastificado com o dioctil ftalato comercial de referência, apresentou perda de massa de 5,76%, resultado consistente com o caráter predominantemente apolar desse composto e com sua reconhecida tendência à migração moderada em meios orgânicos (SABI *et al.*, 2025b).

O filme PVC-EF, plastificado com os ésteres furfurílicos produzidos neste trabalho, apresentou a maior perda de massa (24,04%), valor aproximadamente quatro vezes superior ao do PVC-DOF. Esse resultado não deve ser interpretado de forma isolada: ele reflete, de maneira determinante, a natureza do solvente empregado. O anel furânico presente na estrutura dos ésteres furfurílicos confere polaridade intermediária à molécula, tornando-a quimicamente afim ao etanol aquoso; nesse sistema, as moléculas de etanol penetram a rede polimérica do PVC por difusão, interagem com os ésteres furfurílicos por afinidade polar e promovem sua liberação da matriz, um mecanismo característico da migração de plastificantes em solventes hidroalcoólicos (MUKHERJEE *et al.*, 2024; SABI *et al.*, 2025b). Em solventes de menor polaridade, como água destilada, a afinidade entre o plastificante e o solvente seria substancialmente reduzida, e espera-se que a migração dos ésteres furfurílicos fosse consideravelmente menor, sendo uma hipótese que constitui uma perspectiva relevante para estudos futuros (SABI *et al.*, 2025b). Adicionalmente, a introdução de grupos epóxi na estrutura dos ésteres furfurílicos, por epoxidação das duplas ligações das cadeias graxas, representa uma estratégia promissora para aumentar a resistência à migração desses compostos, por ampliar as interações polares com os grupos clorometilênicos da cadeia de PVC e reduzir a solubilidade do plastificante no meio etanólico (SABI *et al.*, 2025b; HAN *et al.*, 2023).

O filme PVC-50%EF-50%DOF, preparado com a mistura equimássica dos dois plastificantes, apresentou perda de massa de 15,82%, uma redução de aproximadamente 34% em relação ao PVC-EF puro. Esse comportamento indica que a combinação dos dois plastificantes resulta em interações mais complexas com a cadeia de PVC: enquanto as cadeias alifáticas apolares do DOF restringem a penetração do etanol na matriz polimérica, os grupos éster dos ésteres furfurílicos estabelecem interações fracas com os grupos polares do PVC, reduzindo coletivamente a mobilidade das moléculas plastificantes na rede polimérica e, conseqüentemente, sua tendência à extração pelo solvente (SABI *et al.*, 2025a; SABI *et al.*, 2025b). Esses resultados indicam que a utilização dos ésteres furfurílicos em formulação binária com o DOF representa uma estratégia promissora para a redução parcial da dependência de

plastificantes de origem exclusivamente petroquímica em filmes flexíveis de PVC, ainda que a otimização da resistência à migração dos ésteres furfurílicos puros exija desenvolvimentos estruturais futuros, como a epoxidação das cadeias graxas.

6 CONCLUSÃO

Este trabalho demonstrou a viabilidade de um processo biocatalítico sustentável para a síntese de ésteres furfurílicos por hidroesterificação enzimática de óleo de soja residual com álcool furfurílico, empregando a lipase Eversa[®] Transform 2.0 imobilizada em suportes hidrofóbicos de diferentes origens e morfologias. As diferenças estruturais entre os suportes influenciaram diretamente o processo de imobilização e o desempenho catalítico dos biocatalisadores, com destaque para o ET2.0-SiO₂-Octil em atividade hidrolítica e para o ET2.0-CAP em produtividade. Os biocatalisadores de casca de arroz, suporte de baixo custo e origem agroindustrial, demonstraram desempenho competitivo, reforçando seu potencial no contexto da economia circular.

Os ensaios de migração revelaram que os ésteres furfurílicos apresentaram maior perda de massa em etanol 75% do que o DOP comercial, comportamento atribuído à afinidade polar do anel furânico pelo simulante empregado. O uso de simulante único constitui uma limitação do presente estudo, e a formulação binária com DOP demonstrou ser uma estratégia promissora para redução parcial da dependência de plastificantes petroquímicos.

Como perspectivas futuras, recomenda-se: (i) a confirmação da identidade química dos ésteres furfurílicos produzidos por RMN e CG-MS, permitindo a determinação do perfil de ésteres e da conversão efetiva por análise estrutural; (ii) a avaliação da estabilidade operacional dos biocatalisadores ET2.0-CAP e ET2.0-CAG em múltiplos ciclos de reutilização, com investigação dos mecanismos de desativação ao longo do reuso; (iii) a realização de ensaios de migração em simulantes adicionais com diferentes polaridades, incluindo água destilada e simulantes gordurosos, para uma avaliação completa do comportamento migratório dos ésteres furfurílicos em condições representativas de diferentes aplicações; (iv) a epoxidação das duplas ligações das cadeias graxas dos ésteres furfurílicos, estratégia que reduz substancialmente a migração em meio etanólico e melhora as propriedades mecânicas e térmicas dos filmes de PVC; e (v) a otimização das condições reacionais de esterificação, incluindo razão molar AGLs:álcool furfurílico, temperatura e carregamento enzimático, visando maximizar a conversão e a produtividade dos biocatalisadores selecionados em escala ampliada.

REFERÊNCIAS

- ABDELAZIZ, A. *et al.* Microbial lipases: advances in production, purification, biochemical characterization, and multifaceted applications in industry and medicine. **Microbial Cell Factories**, v. 24, 2025.
- ADIIBA, S. H. *et al.* Exploring combi-lipase catalysis of Eversa® Transform and *Candida rugosa* lipases for enzymatic hydrolysis of crude palm oil: effects on fatty acid yield and retention of carotene and tocopherols. **International Journal of Biological Macromolecules**, art. 141650, 2025.
- AKTER, S. *et al.* Effect of bio-based plasticizers from modified vegetable oils in a new formulation of PVC materials. **Journal of Applied Polymer Science**, 2024.
- ALHANISH, A.; ABU GHALIA, M. Developments of biobased plasticizers for compostable polymers in the green packaging applications: a review. **Biotechnology Progress**, v. 37, n. 3, art. e3210, 2021.
- ALI, S. *et al.* The recent advances in the utility of microbial lipases: a review. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, art. 510, 2023.
- ALMEIDA, C. *et al.* Enhancing lipase immobilization via physical adsorption: advancements in stability, reusability, and industrial applications for sustainable biotechnological processes. **ACS Omega**, v. 9, p. 46698-46732, 2024.
- ALVES, M. D. *et al.* Isotherm, kinetic, mechanism and thermodynamic studies of adsorption of a microbial lipase on a mesoporous and hydrophobic resin. **Chemical Engineering Journal**, v. 311, p. 1-12, 2017.
- AN, J. *et al.* Rapid assessment of di(2-ethylhexyl) phthalate migration from consumer PVC products. **Toxics**, v. 12, 2023.
- ARANA-PEÑA, S. *et al.* Immobilization of lipases via interfacial activation on hydrophobic supports: production of biocatalysts libraries by altering the immobilization conditions. **Catalysis Today**, v. 362, p. 130-140, 2021.
- BASTIDA, A. *et al.* A single step purification, immobilization, and hyperactivation of lipases via interfacial adsorption on strongly hydrophobic supports. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 58, n. 5, p. 486-493, 1998.
- BI, M. *et al.* Production, use, and fate of phthalic acid esters for polyvinyl chloride products in China. **Environmental Science & Technology**, 2021.
- BOCQUÉ, M. *et al.* Petro-based and bio-based plasticizers: chemical structures to plasticizing properties. **Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry**, v. 54, n. 1, p. 11-33, 2016.
- BOLIVAR, J. M.; WOODLEY, J. M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Is enzyme immobilization a mature discipline? Some critical considerations to capitalize on the benefits of immobilization. **Chemical Society Reviews**, v. 51, n. 15, p. 6251-6290, 2022. DOI: 10.1039/d2cs00083k.

BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. **Hydrolases in organic synthesis: regio- and stereoselective biotransformations**. 2. ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2006.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248-254, 1976.

BRASSEA-PÉREZ, E. *et al.* Oxidative stress induced by phthalates in mammals: a systematic review. **Environmental Research**, v. 206, art. 112636, 2022.

BRZOZOWSKI, A. M. *et al.* A model for interfacial activation in lipases from the structure of a fungal lipase-inhibitor complex. **Nature**, v. 351, n. 6326, p. 491-494, 1991.

BULLO, G. *et al.* Lipases: market study and potential applications of immobilized derivatives. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 18, 2024.

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 and Bioenergy**, v. 155, art. 106302, 2021.

CHANG, W. H. *et al.* The effects of phthalate ester exposure on human health: a review. **Science of the Total Environment**, v. 786, art. 147371, 2021.

CHAPON, V.; BRIGNON, J.; GASPÉRI, J. Non-persistent chemicals in polymer and non-polymer products can cause persistent environmental contamination: evidence with DEHP in Europe. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, p. 44952-44962, 2023.

DUTTA, N. *et al.* Development of polyvinyl chloride/waste rice husk ash/modified montmorillonite nanocomposite using epoxidized soybean oil as green additive substituting synthetic plasticizer and compatibiliser. **Cleaner Materials**, 2021.

EHTIATI, S.; KHATAMI, S. Lipase: recombinant production methods, origins, and industrial uses. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 72, p. 1905-1923, 2025.

ENESPA; CHANDRA, P.; SINGH, D. Sources, purification, immobilization and industrial applications of microbial lipases: an overview. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, p. 6653-6686, 2022.

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.

FOO, W. H. *et al.* The conundrum of waste cooking oil: transforming hazard into energy. **Journal of Hazardous Materials**, v. 417, art. 126129, 2021.

GAMA, R. S. *et al.* A novel functionalized SiO₂-based support prepared from biomass waste for lipase adsorption. **Materials Chemistry and Physics**, v. 234, p. 146-150, 2019.

GIRELLI, A. M.; CHIAPPINI, V. Lignocellulosic waste as potential support for lipase immobilization: a review. **Journal of Biotechnology**, v. 365, p. 29-47, 2023.

GUIMARÃES, J. *et al.* A hydroesterification reaction system to produce octyl esters using degummed soybean oil as substrate: combining reusable free and immobilized lipases. **Fuel**, 2024.

HAN, Y. *et al.* Epoxidized isosorbide-based esters with long alkyl chains as efficient and enhanced thermal stability and migration resistance PVC plasticizers. **Polymer Testing**, 2023.

HASSAN, A. A. *et al.* Development, influencing parameters and interactions of bioplasticizers: an environmentally friendlier alternative to petro industry-based sources. **Science of the Total Environment**, v. 682, p. 394-404, 2019.

ISMAIL, A.; BAEK, K. Lipase immobilization with support materials, preparation techniques, and applications: present and future aspects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1624-1639, 2020.

ISMAIL, A.; KASHTOH, H.; BAEK, K. Temperature-resistant and solvent-tolerant lipases as industrial biocatalysts: biotechnological approaches and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, p. 818-827, 2021.

KIM, J. *et al.* Valorization of waste-cooking oil into sophorolipids and application of their methyl hydroxyl branched fatty acid derivatives to produce engineering bioplastics. **Waste Management**, v. 124, p. 195-202, 2021.

KOVÁCS-KOTOGÁN, A. *et al.* Enhancing the stability of fungal lipases by immobilization onto Accurel MP 1000 support and additional glutaraldehyde crosslinking. **Biomolecules**, v. 15, 2025.

KUANG, G. *et al.* Immobilization of lipase on hydrophobic MOF synthesized simultaneously with oleic acid and application in hydrolysis of natural oils for improving unsaturated fatty acid production. **International Journal of Biological Macromolecules**, art. 124807, 2023.

LEE, Y. *et al.* Migration of phthalate and non-phthalate plasticizers from polyvinyl chloride (PVC) materials. **Science of the Total Environment**, v. 1002, art. 180559, 2025.

LIANG, K. *et al.* The conformational transitions and dynamics of *Burkholderia cepacia* lipase regulated by water-oil interfaces. **Journal of Chemical Information and Modeling**, v. 63, n. 9, p. 2834-2844, 2023.

MACHADO, N. B. *et al.* Preparation, functionalization and characterization of rice husk silica for lipase immobilization via adsorption. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 128, p. 9-21, 2019.

MANOEL, E. A. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports involves the open form of the enzyme. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 71, p. 53-57, 2015.

MARKET DATA FORECAST. **PVC Market Report**. 2026. Disponível em: <<https://www.marketdataforecast.com/market-reports/polyvinyl-chloride-market>>. Acesso em: 28 jun. 2026.

MARKETSANDMARKETS. **Plasticizers Market worth \$26.60 billion by 2030 - Exclusive Report by MarketsandMarketsTM**. Disponível em: <<https://www.prnewswire.com/news->

releases/plasticizers-market-worth-26-60-billion-by-2030---exclusive-report-by-marketsandmarkets-302712112.html>. Acesso em: 29 jun. 2026.

MATTOS, F. R. *et al.* Design of a new chemoenzymatic process for producing epoxidized monoalkyl esters from used soybean cooking oil and fusel oil. **Catalysts**, v. 13, art. 543, 2023.

MIGUEL JÚNIOR, J. *et al.* Improved catalytic performance of lipase Eversa® Transform 2.0 via immobilization for the sustainable production of flavor esters: adsorption process and environmental assessment studies. **Catalysts**, v. 12, n. 11, art. 1412, 2022.

MINALE, Y. *et al.* Thermodynamic and technological compatibility of polyvinyl chloride, thermoplastic polyurethane, and bio-plasticizer blends. **Polymers**, v. 17, 2025.

MONTEIRO, R. *et al.* Biocatalytic production of biolubricants: strategies, problems and future trends. **Biotechnology Advances**, art. 108215, 2023.

MUKHERJEE, S. *et al.* Reaction kinetics involved in esterification between the fatty acids in castor oil and furfuryl alcohol. **Industrial Crops and Products**, v. 213, art. 118393, 2024.

NAJERA-LOSADA, L. *et al.* Plasticization of polylactide using biobased epoxidized isobutyl esters derived from waste soybean oil deodorizer distillate. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 33, p. 125-144, 2024.

NETO, J. *et al.* Enzymatic hydroesterification of waste oils: combilipase-assisted ethyl ester synthesis via a dual-step biocatalytic process. **ACS Omega**, v. 10, p. 20623-20637, 2025.

NGUYEN, T. *et al.* Furan-2,5- and Furan-2,3-dicarboxylate Esters Derived from Marine Biomass as Plasticizers for Poly(vinyl chloride). **ACS Omega**, v. 5, n. 1, p. 197–206, 31 dez. 2019.

PAN, J. *et al.* The adverse role of endocrine disrupting chemicals in the reproductive system. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, 2024. DOI: 10.3389/fendo.2023.1324993.

POTA, G. *et al.* Tailoring the hydrophobicity of wrinkled silica nanoparticles and of the adsorption medium as a strategy for immobilizing lipase: an efficient catalyst for biofuel production. **Microporous and Mesoporous Materials**, 2021.

PRECEDENCE RESEARCH. **Plasticizer market size, share and growth report**. 2025. Disponível em: <https://www.precedenceresearch.com>. Acesso em: 26 março de 2026.

RAMUNGUL, N. *et al.* Circular economy without chemicals controls? Evidence of recirculated toxic plasticizers in flexible PVC products. **Journal of Environmental Exposure Assessment**, 2022.

RODRIGUES, R. C. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 5, p. 746-770, 2019.

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, art. 110019, 2022.

SABI, G. J. *et al.* Production of benzyl-based esters from used soybean cooking oil as renewable plasticizers for flexible PVC films: exploring new applications for lipases in emerging technologies. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 292, art. 139233, 2025a.

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**, v. 154, p. 63-74, 2025b.

SABI, G.J.; MENDES, A. A.. Produção de ésteres furfurílicos empregando lipase eversa® transform 2.0 imobilizada em diferentes suportes. In: Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química e Encontro Brasileiro sobre o Ensino em Engenharia Química. Vol. 5, 2025, 2025, Belo Horizonte. Anais eletrônicos, Galoá, 2025. Disponível em: <https://proceedings.science/cobeq/cobeq-2025/trabalhos/producao-de-esteres-furfurilicos-empregando-lipase-eversa-r-transform-20-imobili?lang=pt-br>. Acesso em: 09 Junho 2026.

SARDA, L.; DESNUELLE, P. Action de la lipase pancréatique sur les esters en émulsion. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 30, n. 3, p. 513-521, 1958.

SCHMID, R. D.; VERGER, R. Lipases: interfacial enzymes with attractive applications. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 37, n. 12, p. 1608-1633, 1998.

SEEWOO, B. *et al.* Impacts associated with the plastic polymers polycarbonate, polystyrene, polyvinyl chloride, and polybutadiene across their life cycle: a review. **Heliyon**, v. 10, 2024.

TANZER, M. *et al.* Phthalates, bisphenols and per- and polyfluoroalkyl substances migration from food packaging into food: a systematic review. **Reviews on Environmental Health**, v. 40, p. 616-625, 2025.

WAGGETT, A.; PFAENDTNER, J. Hydrophobic residues promote interfacial activation of *Candida rugosa* lipase: a study of rotational dynamics. **Langmuir**, v. 40, n. 37, p. 19449-19458, 2024.

WANG, Y.; QIAN, H. Phthalates and their impacts on human health. **Healthcare**, v. 9, 2021.

WIESINGER, H. *et al.* Legacy and emerging plasticizers and stabilizers in PVC floorings and implications for recycling. **Environmental Science & Technology**, v. 58, p. 1894-1907, 2024.

WOLNY, A. *et al.* Robust biocatalyst for the green continuous flow synthesis of esters from biomass-derived furfuryl alcohol and C8-C18 carboxylic acids. **Green Chemistry**, v. 26, p. 10829-10841, 2024.

ZHANG, X. *et al.* Chemically recyclable polyvinyl chloride-like plastics. **Nature Communications**, v. 15, 2024.

ZHAO, K. *et al.* Life-cycle environmental impacts of additive-related chemicals in polyvinyl chloride plastics and the mitigation potential. **Environmental Science & Technology**, 2024.