CENTRO UNIVERSITÁRIO FEI
RENATA KOBAL CAMPOS DE CARVALHO

SÍNTESE DE RESINAS ALQUÍDICAS VIA ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

São Bernardo do Campo, SP
2016

RENATA KOBAL CAMPOS DE CARVALHO

SÍNTESE DE RESINAS ALQUÍDICAS VIA ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Centro Universitário FEI para obtenção do título de Mestre em Engenharia Química. Orientada pela Prof. Dr. Andreia de Araújo Morandim Giannetti.

São Bernardo do Campo

2016

Carvalho, Renata Kobal Campos de.
Síntese de Resinas Alquídicas via Alcoólise Enzimática / Renata Kobal Campos de Carvalho. São Bernardo do Campo, 2016.
100 p. : il.

Dissertação - Centro Universitário FEI.
Orientador: Prof. Dr. Andréia de Araújo Morandim Gianetti.

1. Síntese de Resinas Alquídicas via Alcoólise Enzimática. 2. Resinas Alquídicas. 3. Enzimas. 4. Alcoólise Enzimática. I. Gianetti, Andréia de Araújo Morandim, orient. II. Título.

centro universitário FEI

Mestrado

APRESENTAÇÃO DE DISSERTAÇÃO
ATA DA BANCA EXAMINADORA

Programa de Pós-Graduação Stricto Sensu em Engenharia Química

PGQ-10

Aluno: Renata Kobal Campos de Carvalho **Matrícula:** 414107-3

Título do Trabalho: Síntese de resinas alquídicas via alcoólise enzimática

Área de Concentração: Engenharia Química

Orientador: Prof.ª Dr.ª Andreia de Araújo Morandim Giannetti

Data da realização da defesa: 11/03/2016

ORIGINAL ASSINADA

Avaliação da Banca Examinadora:

_____

_____

_____

_____

_____

São Bernardo do Campo, / / .

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA

Prof.ª Dr.ª Andreia de Araújo Morandim Giannetti Ass.: _____

Prof. Dr. Baltus Cornelius Bonse Ass.: _____

Prof.ª Dr.ª Lidiane Gaspareto Felippe Ass.: _____

A Banca Julgadora acima-assinada atribuiu ao aluno o seguinte resultado:

APROVADO ☒ REPROVADO ☐

VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO

APROVO A VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO EM QUE FORAM INCLUÍDAS AS RECOMENDAÇÕES DA BANCA EXAMINADORA

_____

Aprovação do Coordenador do Programa de Pós-graduação

_____

Prof. Dr. Ricardo Belchior Torres

Dedico este trabalho a todos aqueles que estiveram ao meu lado nos momentos de alegria e de dificuldade ao longo do mestrado e do desenvolvimento deste trabalho. Em especial aos meus pais, a minha irmã, ao meu avô e as pessoas especiais que fazem parte da minha vida e sabem de todas as dificuldades do dia a dia.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus, aos meus pais, minha irmã Andréia, ao meu avô Jefferson, minha prima Sandra e sua família linda, pois sem eles nada do que sou ou o que quero alcançar seria possível. Agradeço por terem sido meu incentivo nos momentos mais delicados, por terem me dado força e confiança para que eu seguisse sempre em frente, por serem meus companheiros de vida e minha inspiração para que eu corra atrás dos meus objetivos.

A minha orientadora, Prof. Dra. Andreia de Araújo Morandim Giannetti, por todo o seu suporte e confiança desde o início, pelo incentivo e ensinamento, e principalmente, por ter aceitado o desafio de trabalhar em algo novo em sua trajetória de pesquisa e na linha de pesquisa da faculdade. Sem ela, os objetivos propostos neste trabalho não teriam sido alcançados.

Aos colegas de sala, por terem encarado o desafio junto comigo, e por terem proporcionado descontração e diversão em momentos difíceis.

Ao Centro Universitário da FEI, por proporcionar a oportunidade de realizar meu sonho de desenvolver um trabalho complexo em uma linha de pesquisa nunca explorada na instituição até então, fornecendo infraestrutura e todo o apoio necessário.

À empresa BASF SA pelo incentivo aos estudos, pela confiança e por ter “emprestado” seus laboratórios e instalações para o desenvolvimento de parte do projeto. Em especial as pessoas que me ajudaram diretamente neste trabalho: Gerson, Jorge, Michele e Alberto.

À empresa LNF Latino Americana pelo fornecimento da enzima e por tornar viável a realização deste projeto.

Agradeço também alguns amigos especiais que a vida me presenteou, que através de seu incentivo e presença constante, me transmitiram sempre confiança e positividade, para que eu persistisse com força e alegria. Dentre eles, Michelle e Rafaella, que me divertiram em dias difíceis e estiveram comigo nos dias mais complicados e nos mais felizes também.

“Nunca deixe alguém dizer que você não pode fazer alguma coisa. Se você tem um sonho, tem que correr atrás dele. As pessoas não conseguem vencer e dizem que você também não vai vencer. Se quer alguma coisa, corre atrás!”

(A procura da felicidade)

RESUMO

Atualmente, a utilização de enzimas em processos tem sido muito estudada com o objetivo de se encontrar fontes alternativas de obtenção de produtos, ambientalmente corretas e economicamente viáveis. Dessa forma, o presente trabalho relata a síntese de uma resina alquídica utilizando a enzima Lipozyme 435 na etapa de alcoólise. Para isso, durante o processo de obtenção da resina foram determinados, inicialmente, o índice de acidez, o índice de saponificação e a massa molar média do óleo de soja. Após essa etapa, foi estabelecido o melhor solvente a ser utilizado durante a etapa de alcoólise através da determinação da atividade enzimática da 1 Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) simétrico e de segunda ordem, constituído de um fatorial 2^3, com 8 ensaios, 2 pontos centrais e 6 pontos axiais. Os resultados da análise por Cromatografia Líquida de alta Eficiência (CLAE) das amostras provenientes da alcoólise foram avaliados no programa Statistica 12.0, através das superfícies de resposta e de contorno, bem como através da variância para avaliação dos efeitos e da significância dos modelos das variáveis das respostas, visando a determinação da melhor condição reacional para a obtenção da maior concentração de monoacilglicerídeos e diacilglicerídeos. Para tanto, foi utilizado um nível de confiança de 95 %. Após a análise dos dados, foram obtidas como condições ótimas de reação uma concentração de enzima de 9,36 %, uma relação mássica glicerina/óleo de 1:3,5 (m/m) e uma temperatura de 56,73 ºC. Como foi constatada incompatibilidade do anidrido ftálico com *terc*-butanol, após determinada a melhor condição de alcoólise, foi realizada a reação de esterificação utilizando-se o produto da alcoólise com tetrahidrofurano. Durante a etapa final de obtenção de resina foram adicionados solventes (xileno e aguarrás) e anidrido ftálico em quantidades previamente definidas obtendo-se a resina no final do processo com características de viscosidade e acidez conforme especificação, sem diferenças quanto à aplicação da resina usual produzida através de catalisador químico. Foi estudada, ainda, a recuperação da enzima, visando sua reutilização no processo e, consequente, redução de custo, além da redução de geração de resíduos sólidos, verificando-se que a mesma apresentou valores expressivos de atividade enzimática após a utilização e recuperação. Com relação ao custo do processo, verificou-se um valor bastante elevado comparado com o padrão devido ao alto custo da matéria-prima empregada, a enzima.

Palavras-chave: Síntese. Resinas alquídicas. Alcoólise. Enzimas. Otimização.

ABSTRACT

Nowadays, the usage of enzymes is been explored in different kinds of processes. Thus, this paper describes the synthesis of an alkyd resin using, in one of the stages, the alcoholysis provided by Lipozyme 435. For this, during the development of resin obtaining process, parameters as acid value, the index saponification and medium molar mass of soybean oil were first determined. After that, the best solvent to be used during the alcoholysis step was established by comparing and determining the enzymatic activity of Lipozyme 435 enzyme in the presence of hexane, water, tetrahydrofuran and tert-butanol . It was verified that the best solvent was tert-butanol, followed by tetrahydrofuran, and then, alcoholysis were performed in duplicate using different concentrations of enzyme, oil / glycerin relations and temperature employing Delineation Composite Central Rotational (CCRD) symmetry and second order, consisting of a factor 2^3 with 8 trials, 2 central points and 6 axial points, in order to determine the best reaction conditions for obtaining the greatest concentration of monoacilglycerides and diacilglycerides. All samples were analyzed using High Liquid Chromatography (CLAE) and the results were evaluated in Statistica 12.0 program, by analyzing the response surface and contour as well as variance analysis to evaluate the effect and significance of the models of variables of the answers. It was also used a 95% confidence level. After analysis of data, it was obtained as optimal reaction conditions a 9.36% concentration of enzyme, a weight ratio glycerol / oil of 1: 3.5 (w / w) and a temperature of 56.73 ° C. Because it has been observed incompatibility of phthalic anhydride with tert-butanol, the best condition after alcoholysis that was been determined, esterification reaction using the product of the alcoholysis was carried out with tetrahydrofuran. During the final step of obtaining resin, solvents were added (xylene and mineral spirit) and phthalic anhydride in specified amounts to give the resin at the end of the process viscosity characteristics and acid index as specified, without differences in the application of the usual resin produced by chemical catalyst. It was studied further the recovery of the enzyme, their reuse in the process and, consequently, cost savings, besides reducing solid waste generation, verifying that it showed significant amounts of enzyme activity after use and recovery. Regarding the cost of the process, there was a very high value compared to the standard due to the high cost of raw material used, the enzyme.

Keywords: Synthesis. Alkyd Resin. Alcoholysis. Enzyme. Optimization.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Volume e faturamento de tintas e vernizes em 2014 17
Figura 2 - Fluxograma simplificado do processo de produção de tintas base solvente..... 24
Figura 3 - Exemplo de estrutura química de um triacilglicerídeo presente em oleaginosas: R1, resíduo proveniente do ácido oleico, R2, resíduo proveniente do ácido linoleico e R3, resíduo proveniente do ácido linolênico. 26
Figura 4 - Exemplificação da formação de um diaacilglicerídeos através da reação de alcoólise 26
Figura 5 - Esterificação de monoglícerideo com utilização de anidrido ftálico 27
Figura 6 - Mecanismo simplificado de alcoólise básica de óleos vegetais e formação dos glicerídeos 34
Figura 7 - Mecanismo de obtenção das resinas alquídicas a partir de monoglicerídeos 35
Figura 8 - Obtenção dos ácidos graxos e preparação de resinas alquídicas..... 36
Figura 9 - Fluxograma simplificado do processo de produção de resinas alquídicas 38
Figura 10 - Estrutura dos 20 aminoácidos essenciais que compõe as enzimas..... 40
Figura 11 - Formação de ligação peptídica entre dois α-aminoácidos 40
Figura 12 - (A) Exemplificação da estrutura secundária α-hélice e β-folhas; (B) Exemplificação da estrutura tridimensional da lipase..... 41
Figura 13 - Comparação da energia envolvida em processos sem e com catalisadores..... 43
Figura 14 - (A) Modelo chave fechadura; (B) Modelo de ajuste induzido sendo que: E indica a enzima, S o substrato e P o produto formado 45
Figura 15 - pH ótimo observado para a lipase Novozym 435 46
Figura 16 - Estrutura da lipase de *Pseudomonas cepacia* 48
Figura 17 - Mecanismo de reação catalisada por lipases..... 49
Figura 18 - (a) Análise Univariada; (b) Matriz com todas as combinações e (c) Delineamento Composto Central Rotacional..... 52
Figura 19 - Fluxograma referente a determinação do Índice de Acidez do óleo de soja..... 56
Figura 20 - Fluxograma referente a determinação do Índice de Saponificação do óleo de soja 57
Figura 21 - Fluxograma referente à determinação da atividade enzimática para produção de monogliceróis 59
Figura 22 - Planejamento utilizado durante a realização dos experimentos 61
Figura 23 - Esquema de síntese de enzima em laboratório..... 64
Figura 24 - Tubos padrão para determinação da viscosidade Gardner 65

Figura 25 -Escala Gardner utilizada para determinação de cor Gardner 67
Figura 26 - Cromatograma obtido experimentalmente referente ao óleo de soja..... 70
Figura 27 - Cromatograma de referência obtido para a monooleína 72
Figura 28 - Cromatograma de referência obtido para a monolinoleína 73
Figura 29 - Cromatograma de referência obtido para a dioleína 73
Figura 30 - Cromatograma de referência obtido para a dilinoleína 73
Figura 31 - Cromatograma de referência obtido para a trioleína..... 74
Figura 32 - Cromatograma de referência obtido para a trilinoleína..... 74
Figura 33 - Cromatograma obtido referente a alcoólise enzimática realizada em THF..... 75
Figura 34 - Comparação dos cromatogramas ilustrativos do óleo de soja e do produto da alcoólise: (---) óleo de soja (cromatograma 1); (---) produto da alcoólise (croatograma 2).... 76
Figura 35 - Diagrama de Pareto mostrando as variáveis que mais influenciam na produção de monoglicerídeos (A), diglicerídeos (B) e triglicerídeos (C)..... 80
Figura 36 - Ajuste do modelo para monoglicerídeos 82
Figura 37 - Ajuste do modelo para diglicerídeos 83
Figura 38 - Ajuste do modelo para triglicerídeos..... 83
Figura 39 – Superfícies de resposta obtidas em função da variação da temperatura, da relação óleo/glicerina e da porcentagem de catalisador para maximização dos teores de mono e diglicerídeos e redução do teor de triglicerídeos utilizando-se a função de desejabilidade 85
Figura 40 - Superfícies de contorno obtidas em função da variação da temperatura, da relação óleo/glicerina e da porcentagem de catalisador para maximização dos teores de mono e diglicerídeos e redução do teor de triglicerídeos utilizando-se a função de desejabilidade 86
Figura 41 - Determinação das condições ótimas reacionais utilizando-se a função de desejabilidade 87
Figura 42 - Teor de glicerídeos obtidos na alcoólise em função do tempo de conversão..... 88

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Faturamento e produção no Brasil em 2013 e 2014 do setor de tintas e vernizes 18
Tabela 2 - Tipos de resinas, reagentes empregados e aplicação 20
Tabela 3 - Principais tipos de aditivos utilizados na produção de tintas e função 22
Tabela 4 – Modificação das propriedades das resinas alquídicas em função da variação do óleo vegetal utilizado e suas principais características 28
Tabela 5 - Porcentagens de cada reagente na composição da resina obtida, características do produto e aplicação 28
Tabela 6 - Principais derivados de ácidos graxos presentes em cada óleo, fórmula química e propriedade de secagem atribuída ao mesmo devido a composição 29
Tabela 7 - Principais álcoois utilizados durante o processo de fabricação de resinas alquídicas e propriedades finais da do produto obtido 30
Tabela 8 - Principais ácidos carboxílicos e anidridos de ácidos carboxílicos empregados durante o preparo de resinas alquídicas e propriedades do produto final 31
Tabela 9 - Principais produtos adicionados em resinas alquídicas e características finais obtidas 32
Tabela 10 - Classificação das enzimas de acordo com o tipo de reação catalisada e exemplos 42
Tabela 11 - Descrição das principais vantagens e desvantagens de se utilizar enzimas em processos químicos 44
Tabela 12 - Valores dos parâmetros a serem testados 60
Tabela 13 - Formulação de resina utilizada 64
Tabela 14 - Atividade da enzima Novozym 435 frente a diferentes solventes 71
Tabela 15 - Composição do óleo de soja em termos de ácidos graxos 72
Tabela 16 - Valores de conversão em mono, di e triglicerídeos obtidos com a variação dos parâmetros de entrada (temperatura, relação óleo/glicerina e % de catalisador) 75
Tabela 17 – Porcentagens de monoglícerios e diglicerídeos somados em cada amostra submetida a alcoólise enzimática 77
Tabela 18 - Estimativa de cada efeito para os monoglicerídeos 78
Tabela 19 - Estimativa de cada efeito para os diglicerídeos 79
Tabela 20 - Estimativa de cada efeito para os triglicerídeos 80
Tabela 21 - Equações da curva para os monoglicerídeos e diglicerídeos 84
Tabela 22 - Cálculo de custo da fórmula empregando catalisador químico 89

Tabela 23 - Cálculo de custo da fórmula empregando catalisador enzimático 89
Tabela 24 - Cálculo de custo fixo da fórmula empregando catalisador químico 89
Tabela 25 - Cálculo de custo fixo da fórmula empregando catalisador enzimático..... 90
Tabela 26 - Resultados de atividade obtidos após tratamento da enzima com solvente 91
Tabela 27 - Resultados de viscosidade e acidez obtidos durante o avanço da resina 92

LISTA DE ABREVIAÇÕES

THF - Tetrahidrofurano

ANOVA – Análise de Variança

CLAE - Cromatografia liquida de alta eficiência

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

IU - Unidades de atividade

IUBMB - International Union of Biochemistry and Molecular Biology

UV – Ultravioleta

MSR – Metodologia de Superfície de Resposta

PA – Padrão Analítico

U/g – Unidade de atividade/grama

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO **14**
2 OBJETIVOS **15**
2.1 OBJETIVO GERAL **15**
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS **15**
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA **17**
3.1 O SETOR DE TINTAS E VERNIZES NO BRASIL **17**
3.1.1 Tintas **19**
3.1.2 Principais reagentes presentes nas tintas **19**
3.1.3 Processo geral de fabricação de tintas **22**
3.2 ESCOLHA DA RESINA EM FUNÇÃO DO TIPO DE TINTA **24**
3.2.1 Definição e principais características das resinas alquídicas **25**
3.2.2 Produção de resinas alquídicas e composição **29**
3.2.2.1 Primeira etapa de produção: alcoólise 33
3.2.2.2 Segunda etapa: esterificação e obtenção da resina final 34
3.2.2.3 Processo simplificado de produção das resinas alquídicas em indústrias 37
3.3 ENZIMAS **38**
3.3.1 Definição **39**
3.3.2 Tipos de enzimas e classificação **41**
3.3.3 Mecanismo de atuação de enzimas **43**
3.3.4 Estabilidade da enzima **45**
3.4 AS LIPASES E SEU MECANISMO DE REAÇÃO **47**
3.5 ALCOÓLISE ENZIMÁTICA **50**
3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL **50**
3.6.1 Delineamento composto central rotacional (DCC) **51**
4 MATERIAIS E MÉTODOS **54**
4.1 MATERIAIS **54**
4.2 EQUIPAMENTOS **54**
4.3 MÉTODOS **55**
4.3.1 Caracterizações do óleo de soja **55**
4.3.1.1 Determinação do índice de acidez 55
4.3.1.2 Determinação do índice de saponificação 56
4.3.1.3 Determinação da massa molar média 57

4.3.2 Determinação do solvente de reação e da atividade enzimática para produção monogliceróis e digliceróis **58**
4.3.3 Alcoólise com enzima **60**
4.3.3.1 Planejamento experimental 61
4.3.3.2 Determinação do tempo ótimo de alcoólise 62
4.3.4 Caracterização do produto de alcoólise **63**
4.3.4.1 Solubilidade em Metanol 63
4.3.5 Esterificação da resina **63**
4.3.6 Caracterização da resina alquídica **64**
4.3.6.1 Viscosidade gardner 65
4.3.6.2 Índice de acidez 66
4.3.6.3 Cor gardner 66
4.3.7 Recuperação da enzima **67**
4.3.8 Análise econômica **67**
5 RESULTADOS E DISCUSSÕES **69**
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA **69**
5.2 ESCOLHA DO SOLVENTE DE REAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA **70**
5.3 OTIMIZAÇÃO DA ALCOÓLISE ENZIMÁTICA **71**
5.4 CÁLCULO DE CUSTO/BENEFÍCIO DA CONDIÇÃO ÓTIMA DE ALCOÓLISE **88**
5.5 RECUPERAÇÃO DA ENZIMA **90**
5.6 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA RESINA **91**
6 CONCLUSÕES **93**
REFERÊNCIAS **94**

1 INTRODUÇÃO

Na maioria das vezes, quando se discute o setor de tintas e vernizes, verifica-se que não é dada uma significância razoável ao ramo, que apresenta uma importância em diversos campos de atuação, como o setor automotivo, de produção de brinquedos, eletrodomésticos, artesanatos, pintura de telas, construção civil e, nesse contexto, inúmeros fabricantes de tintas se beneficiam em todo o país, fazendo com que o Brasil ocupe uma importante posição entre os cinco maiores fabricantes de tintas no mundo (ABRAFATI, 2015; FIESP, 2006).

Assim como destacada a grande importância do Brasil entre os produtores de tintas, deve-se destacar também o fato de se utilizarem tecnologias de ponta no processo de fabricação, fazendo com que o País possa competir de igual para igual com os principais países produtores (ABRAFATI, 2015; FIESP, 2006).

Neste cenário, destaca-se também o elevado número de pesquisas que têm sido desenvolvidas no Brasil visando novos processos de produção que possibilitem a redução dos custos bem como a redução do número de resíduos, o que leva a processos ambientalmente corretos, foco dos processos de produção no futuro, principalmente os que utilizam rotas enzimáticas, como proposto no presente trabalho.

2 OBJETIVOS

Levando-se em conta a importância do setor de tintas e vernizes em diversos setores, o presente trabalho teve como objetivo descrever a síntese de uma resina alquídica, em escala de laboratório, utilizando a enzima Lipozyme 435 como catalisador do processo de alcoólise.

2.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo geral descrever a síntese de uma resina alquídica, via alcoólise enzimática e verificação da viabilidade de obtenção da mesma, além da realização de um estudo de viabilidade econômica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Levando-se em conta o objetivo geral do projeto, destacam-se como objetivos específicos:

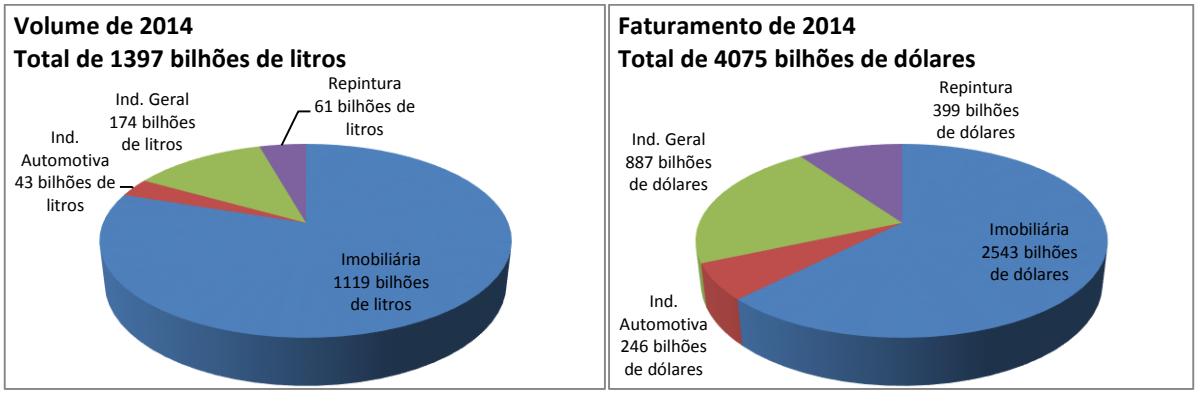
a) caracterizar o óleo de soja para determinação da massa molar média;
b) determinar o melhor solvente reacional através da determinação das atividades enzimáticas;
c) determinar a melhor condição de alcoólise enzimática utilizando-se um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) de segunda ordem com três fatores, duas repetições no ponto central e seis pontos axiais variando-se a temperatura do meio reacional, a relação molar óleo/glicerina e a concentração de catalisador (enzima);
d) determinar as condições ideais do processo aplicando a metodologia de superfície de respostas e o ajuste dos modelos por análise de variância (ANOVA);
e) determinar o tempo ótimo reacional da etapa de alcoólise;
f) obter a resina, por esterificação, através de teste laboratorial, com as condições de alcoólise otimizadas obtidas nos ensaios preliminares;
g) calcular e comparar os custos envolvidos nos processos utilizando-se alcoólise química (atualmente utilizada na indústria) e alcoólise enzimática;

h) verificar a atividade enzimática da enzima após recuperação da mesma.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

As tintas e os vernizes são produtos que apresentam grande importância industrial devido sua vasta aplicação em diversos itens (Figura 1), sendo necessária a realização de estudos referentes a sua composição, produção, bem como de processos alternativos de produção, a fim de se conseguir ganhos econômicos e se desenvolver processos ambientalmente sustentáveis.

Figura 1 - Volume e faturamento de tintas e vernizes em 2014



Fonte: Autora “adaptado de” ABRAFATI, 2015.

3.1 O SETOR DE TINTAS E VERNIZES NO BRASIL

Atualmente, muitas pesquisas têm sido realizadas visando melhorias no setor de tintas e vernizes e, neste contexto, o Brasil ocupa uma posição de extrema importância entre os produtores mundiais, atuando direta e indiretamente em diversos setores tanto do ramo industrial, destacando-se a indústria automotiva e de construção, como no ramo decorativo, podendo ser citadas a pintura de residências e a produção de artesanatos (Tabela 1) e, devido a essa forte atuação do País, que têm investido cada vez mais em tecnologia, o faturamento proveniente desse ramo tem mostrado números significativos e com tendências de melhorarem a cada ano (ABRAFATI, 2015; FIESP, 2006).

Dessa forma, nota-se a existência, no País, de grandes fornecedores do Brasil e do Mundo tanto de matérias-primas, como de insumos para produção de tintas, ora de modo direto, ora por meio de representantes, sendo, o País considerado referência

em tecnologia na produção de diversos tipos de tintas utilizando os mais diversos processos de produção (ABRAFATI, 2015; FIESP, 2006).

Tabela 1 - Faturamento e produção no Brasil em 2013 e 2014 do setor de tintas e vernizes

	2014	2015
Faturamento líquido (bilhões R$)	9,589	10,174
Volume produzido (bilhão de litros)	1,397	1,318
Resultado 2015/2014	-5,6%	

Fonte: Autora “adaptado de” ABRAFATI, 2015.

Assim, considerando a produção de diversos tipos de tintas no País e visando uma melhor organização do setor, é comum a classificação das mesmas e divisão em categorias e, durante essa classificação, é levado em consideração os componentes utilizados no processo de produção, bem como a sua aplicação e, dessa forma, segundo a ABRAFATI (2015), as tintas podem ser divididas em quatro categorias:

a) categoria I: estão reunidas nessa categoria as tintas imobiliárias cujo principal consumidor é a construção civil e, devido a importância do setor civil, representa 80,3 % do total de tintas produzidas no País e 63 % do faturamento anual. Assim, podem ser colocadas nessa categoria os produtos aquosos (látex) destacando-se os acrílicos, vinílicos, vinil-acrílicos entre outros, bem como as tintas à base de solvente orgânico como as tintas a óleo, os esmaltes sintéticos, etc;
b) categoria II: Essa é a classe em que estão presentes as tintas automotivas consumidas pelas montadoras e responsáveis por 2,5 % do volume total de produção e 5 % do faturamento anual no País. Destacam-se as tintas utilizadas como fundos (primers) tanto eletroforéticos como a base de solvente como os esmaltes de acabamento mono-capa e bi-capa;
c) categoria III: Estão dentro dessa categoria as tintas para repintura automotivas que representam 4,5 % da produção e 10 % do faturamento, o que representa o dobro da produção e faturamento das tintas da categoria II;
d) categoria IV: Estão nesta categoria as demais tintas que somam um volume de produção de 12,5 % compreendendo as tintas utilizadas em eletrodomésticos,

na indústria em geral, em pinturas marítimas, aeroespaciais, entre outras, sendo responsáveis por 21,8 % do faturamento da indústria de tintas e vernizes.

3.1.1 Tintas

As tintas podem ter sua composição muito variada em função da sua aplicação, porém, segundo a norma brasileira NBR 12554, considera-se a mesma composta, basicamente, por resinas (também conhecidas como veículo), pigmentos (que podem ser orgânicos ou inorgânicos), aditivos, que são adicionados, em pequenas quantidades, para conferir alguma característica especial a tinta e solventes que, evaporam após a aplicação da mesma na superfície, ocorrendo a formação de uma película que pode ter diversas funções.

Outra definição que deve ser destacada é a que define uma tinta como uma mistura que apresenta elevada estabilidade e mostra a presença de uma parte sólida, formada, principalmente, pela resina e responsável pela formação da película após a secagem e, algumas vezes mostra a presença de aditivos, e outra volátil, formada pelo solvente que evapora após a aplicação (ABRAFATI, 2015).

3.1.2 Principais reagentes presentes nas tintas

Tintas são obtidas, basicamente, pela mistura de resinas, pigmentos, cargas, solventes e aditivos, conforme descrito anteriormente, em quantidades determinadas sendo importante a descrição da função de cada componente na formulação e verificadas as influências de cada reagente escolhido no produto final (SILVA et al., 2015; YANG et al., 2015; CRESCENZO et al, 2014; VILA et al., 2007).

Assim, as resinas também chamadas de veículos não voláteis ou ligantes apresentam como função principal de formação da película após sua aplicação, segundo a norma ABNT NBR 15156. Dessa forma, devido a sua função, características físico-químicas específicas são obtidas através da mudança da resina utilizada durante o processo de produção, destacando-se algumas propriedades como a resistência química ou física, o tipo e velocidade de secagem, a capacidade de aderência a superfície, entre outras (MORENO et al., 2015; WEG).

Dessa forma, devido a sua grande importância, devem ser destacados os principais componentes que podem ser utilizados nessa função, sendo possível a utilização de resinas naturais, principalmente as extraídas de vegetais e, sintéticas, que estão sendo as mais utilizadas atualmente pelo setor devido a praticidade e desenvolvimento de tecnologias mais avançadas de produção, que possibilitam a redução do custo final do produto (ROSI et al., 2015; FIESP, 2006).

Dessa forma, muitas resinas podem ser utilizadas e proporcionar diferentes características no produto final, sendo as mais usuais destacadas na Tabela 2, com suas respectivas composições e aplicações:

Tabela 2 - Tipos de resinas, reagentes empregados e aplicação

Tipo de resinas	Matérias-primas empregadas	Utilização
Emulsões vinílicas	Acetato de vinila com diferentes monômeros, como: acrilato de butila, dibutil maleato, etc.	Tintas látex vinílicas e vinil acrílicas.
Acrílicas	Monômeros acrílicos e metacrílicos.	Base coats, vernizes (decorativos) e esmaltes automotivos.
Alquídicas	Poliácidos, ácidos graxos e poliálcoois (glicerina, pentaeritritol).	Tintas que secam por oxidação ou polimerização por calor.
Epóxi	Bisfenol A com eplicloridina.	Tintas para pisos.
Poliéster	Ácidos dicarboxílicos alifáticos ou aromáticos com grupos diois.	Primers e acabamentos de cura à estufa.

Fonte: Autora “adaptado de” ASSANVO et al., 2015; BETTENCOURT et al., 2010; FIESP, 2006; FONSECA et al., 2015; HELDMANN et al., 1999; JIN et al., 2015; MARIZ et al., 2010; NOSAL et al., 2015; RÄMÄNEN et al., 2014.

Outro componente de grande importância na produção de tintas são os pigmentos que, incorporados à película, possibilitam a obtenção de propriedades especiais como a anticorrosiva e também servem para conferir cor ao material em que a mesma é aplicada.

Eles podem ser classificados em inorgânicos e orgânicos sendo que, os pigmentos inorgânicos, em geral, conferem a tinta maior densidade, menor brilho e maior resistência tanto química como a raios ultravioletas destacando-se, nessa categoria, o dióxido de titânio, utilizado na maioria das tintas, os cromatos e os molibdatos de chumbo, o negro de fumo, entre outros. Com relação aos pigmentos orgânicos, muito utilizados pela indústria na atualidade, principalmente os azo

compostos, conferem a tinta baixa densidade, alto brilho, baixa resistência a reações químicas e a ação frente aos raios UV. Eles também são responsáveis pela opacidade provocada em materiais após a pintura podendo ser destacados as ftalocianinas azul e verde, toluidina vermelha, arilamídicos amarelos, etc (SILVA et al., 2015; YANG et al., 2015; BERTO et al., 2012).

Além das resinas e pigmentos, também devem ser incorporados a tinta cargas sendo utilizados, neste caso, minerais que promovem características especiais as tintas como brancura desejada, granulometria específica para tinta produzida, propriedades físico-químicas específicas, reforço a película formada bem como brilho e barateamento durante o processo de produção.

Devido as suas características e propriedades obtidas com sua adição, as mesmas desempenham um papel fundamental na produção de tintas látex, bem como na produção de esmaltes sintéticos, tintas a óleo, tintas utilizadas como fundo, entre outras, sendo considerados, para essa finalidade a utilização de carbonato de cálcio, agalmatolito, caulim, barita, sulfato de bário, sílica, sílico-aluminato de sódio, óxido de zinco, etc. (FIESP, 2006; KAMAL et al., 2015; SILVA et al., 2015; WEG).

Finalizando a relação dos principais componentes necessários para a produção de tintas, devem ser destacados os solventes que, assim como no caso dos pigmentos, podem ser divididos em duas categorias: os orgânicos (divididos em hidrocarbonetos alifáticos e aromáticos e compostos oxigenados, como ésteres, éteres, álcool e cetonas) e a água.

Esse componente tem como principal função a obtenção da viscosidade ideal dependendo do tipo de tinta e aplicação, sendo também responsável pelo poder de solvência, diferentes taxas de evaporação, ponto de ebulição e classificação de risco. Durante a aplicação da tinta, o mesmo evapora, sendo formado uma película sobre a área de aplicação formada, principalmente, pela resina e pelo pigmento, como citado anteriormente (FIESP, 2006; SILVA et al., 2015; WEG).

Já os aditivos, que não são considerados como um dos componentes principais, englobam vários reagentes que, em geral, são aplicados em pequenas quantidades (na maioria das vezes em quantidades menores que 5%) durante o processo de obtenção da tinta e, atuam na promoção de propriedades específicas como, por exemplo, o aumento da proteção contra corrosão, aumentando o tempo de preservação da área recoberta, como bloqueador de raios UV, facilitando o nivelamento durante a aplicação, na catálise de reações químicas específicas, na

dispersão e umidificação de pigmentos e cargas e, evitando a formação de espumas durante o processo de fabricação e aplicação (Tabela 3) (FIESP, 2006).

Tabela 3 - Principais tipos de aditivos utilizados na produção de tintas e função

Aditivo	Função
Fotoiniciadores	Promovem a cura das tintas por radiação UV através da formação de radicais livres
Secantes	Empregados como catalisadores de secagem oxidativa em resinas alquídicas e óleos vegetais polimerizados
Agentes reológicos	Promovem nivelamento e diminuição de escorrimento através da modificação da reologia das tintas (aquosas e sintéticas)
Inibidores de corrosão	Conferem propriedades anticorrosivas ao revestimento;
Umectantes e dispersantes	Melhoram a dispersão dos pigmentos nas tintas através do aumento da molhabilidade de cargas e pigmentos
Bactericidas	Evitam a degradação do filme da tinta devido à ação de bactérias, fungos e algas
Coalescentes	Facilitam a formação de um filme contínuo na secagem de tintas base água unindo as partículas do látex

Fonte: Autora “adaptado de” FIESP, 2006.

3.1.3 Processo geral de fabricação de tintas

Além do conhecimento a respeito da composição básicas das tintas, existe a necessidade de se analisar o processo de produção das mesmas bem como, de maneira mais aprofundada o tipo de resina utilizada, uma vez que as mesmas são responsáveis por importantes propriedades das tintas.

Assim, durante o processo de produção de tintas, existe a possibilidade de utilização tanto do processo descontínuo, como o em batelada sendo mais comum a utilização do processo em batelada pela praticidade de ajustes das características finais do material através da adição de reagentes.

Nesse tipo de processo, destacam-se como etapas principais a mistura dos reagentes, as reações químicas e conversões envolvidas, como no caso específico

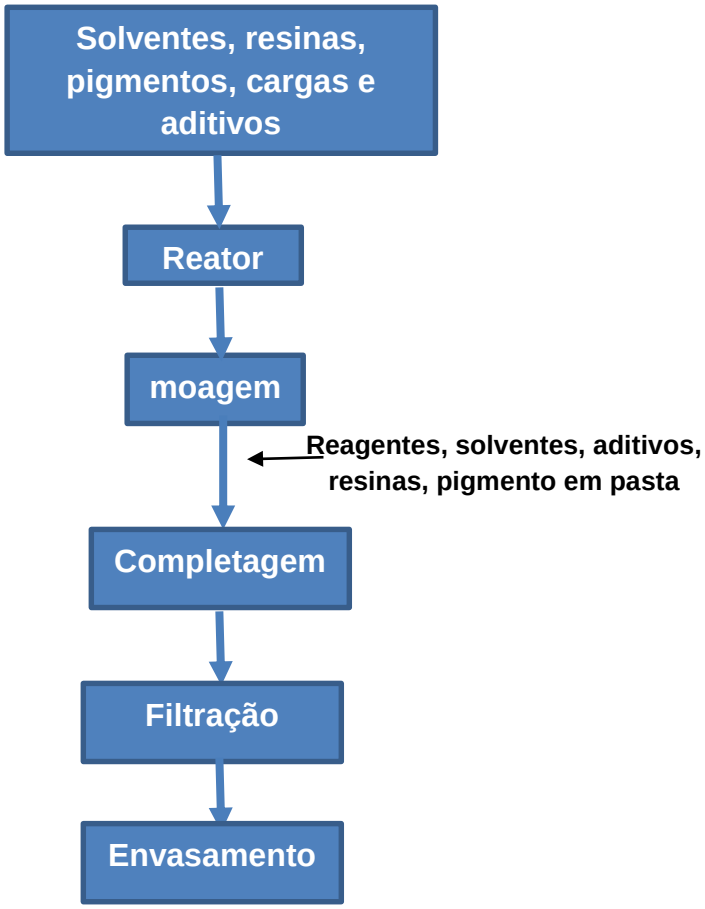
de produção da resina escolhida e a secagem do filme em função da aplicação da mesma.

Dessa forma, destacam-se como processos principais relacionados à produção das tintas as etapas de pré-mistura e dispersão dos reagentes, que promovem a homogeneidade da tinta, a completagem ou etapa de finalização das reações envolvidas na formação da tinta, a filtração para remoção de possíveis sólidos e o envase para distribuição ao consumidor (FIESP, 2006)

Com relação as operações e reações envolvidas em cada um desses processos, deve-se salientar que, durante a etapa de pré-mistura, todos os reagentes devem ser adicionados ao reator, sob agitação, na ordem especificada, até a obtenção de uma mistura homogênea que, posteriormente passa pela etapa de moagem utilizando-se tanto os moinhos horizontais, como os verticais, dependendo das instalações disponíveis para promoção das quebras das partículas de pigmentos e cargas adicionados até a obtenção de partículas com tamanhos ideais. Para isso, podem ser utilizados como meios de moagem areia, zirconita, etc sendo obtida, ao término dessa etapa, uma mistura com melhores propriedades, principalmente de cobertura bem como uma excelente homogeneidade da cor da tinta.

Finalizando essa etapa, na completagem, o produto passa por um processo de agitação no reator sendo inseridos, nesse momento, os reagentes finais necessários para a produção da tinta estipulada, como por exemplo os aditivos. Assim, nessa parte do processo devem ser observadas propriedades fundamentais do produto como cor desejada, viscosidade ideal, teor de sólidos, pH, entre outras, sendo realizada, para finalizar o processo, uma filtração, com o intuito de se remover possíveis sólidos, como citado anteriormente e, por último, o envase (Figura 2)

Figura 2 - Fluxograma simplificado do processo de produção de tintas base solvente



Fonte: Autora “adaptado de” FIESP, 2006.

3.2 ESCOLHA DA RESINA EM FUNÇÃO DO TIPO DE TINTA

Muitos tipos de resinas, como as alquídicas, acrílicas e epóxi, podem ser utilizadas durante a produção de tintas levando-se em conta as características desejadas, bem como a aplicação destinada ao material fabricado.

Assim, levando-se em conta a produção de tintas de secagem por oxidação ou polimerização, a resina mais utilizada é a alquídica tendo, a mesma, grande aplicação no mercado de tintas atuais.

Porém, para se entender a grande importância dessa resina na produção de tintas, é necessária a sua descrição completa bem como do seu processo de obtenção.

3.2.1 Definição e principais características das resinas alquídicas

Atualmente, um tipo de resina muito utilizada na produção de tintas é a alquídica, que surgiu, principalmente, devido a necessidade de se melhorar as propriedades físico-químicas dos óleos, aplicados, anteriormente, no processo de fabricação, que levavam a uma resina que apresentava problemas como o tempo de secagem, considerado muito elevado, a baixa resistência ao intemperismo e o escurecimento ou amarelecimento com o tempo (ASSANVO et al., 2015; HARTMANN, 2011; FAZENDA, 2005; NOSAL et al., 2015; VALLEJO et al., 2015).

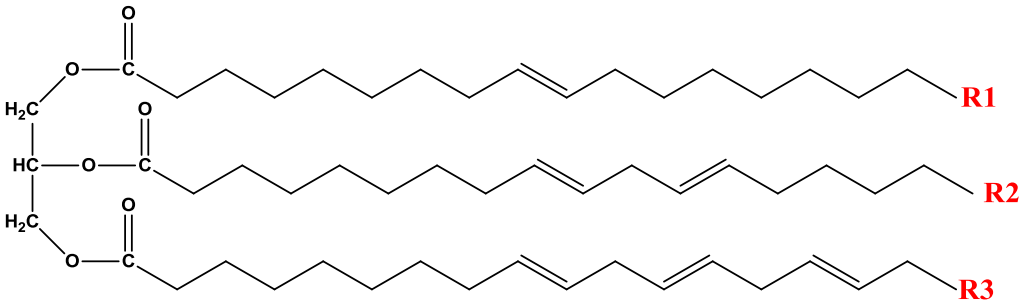
Esses fatores causavam sérios problemas durante a aplicação, principalmente em revestimentos, e que foram solucionados com o surgimento das resinas alquídicas que possibilitaram, além da solução desse problemas, a obtenção de uma tinta com melhores propriedades relativas a tensão superficial, adesão, excelente brilho e aderência, facilidade de nivelamento durante a aplicação e a possibilidade de ampliação de usos (ASSANVO et al., 2015; HARTMANN, 2011; FAZENDA, 2005; NOSAL et al., 2015; VALLEJO et al., 2015).

Também deve ser destacada a possibilidade de utilização de diferentes combinações de reagentes durante sua produção e, com isso, a obtenção de diferentes propriedades em função da variação do óleo, um dos principais componentes da resina alquídica e utilizado em larga escala, bem como da variação do poliálcool ou do poliácido, como destacado por FAZENDA (2005).

Ainda, segundo FAZENDA (2005) e segundo HARTMANN (2011), a produção de resina ocorre através da reação de esterificação entre o poliálcool, como a glicerina e do poliácido, como o anidrido ftálico, com a adição de ácidos graxos ou mono ou diacilgliceróis, provenientes de plantas oleaginosas, visando melhorar as características da resina final, principalmente em termos de flexibilidade e redução do tempo de secagem e de cura.

Porém, essa adição direta tanto dos ácidos graxos, como dos gliceróis se mostrou economicamente não viável, sendo utilizado, atualmente, um processo substitutivo, a alcoólise, que é uma reação de quebra dos triacilglicerídeos presentes em plantas oleaginosas (Figura 3) em seus respectivos mono e diacilglicerídeos utilizando-se, durante essa reação, um poliálcool, como a glicerina e elevada temperatura.

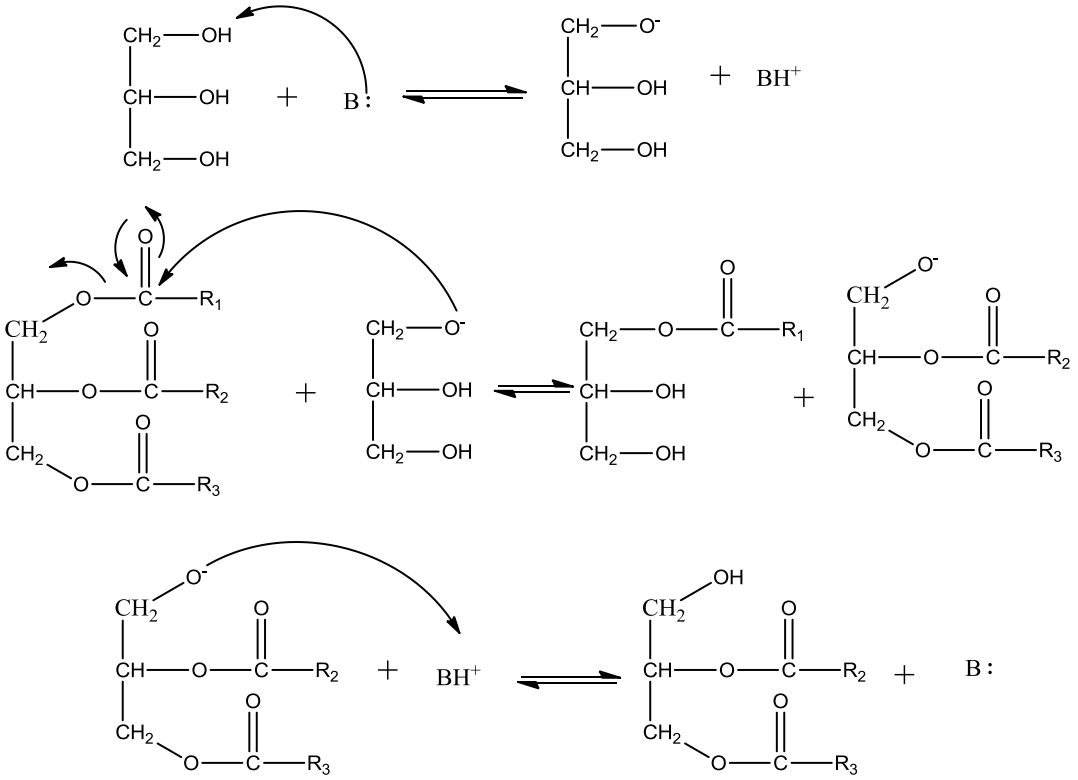
Figura 3 - Exemplo de estrutura química de um triacilglicerídeo presente em oleaginosas: R1, resíduo proveniente do ácido oleico, R2, resíduo proveniente do ácido linoleico e R3, resíduo proveniente do ácido linolênico.



Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011

Desta reação, é possível a obtenção tanto de monoacilglicerídeos, como de dialcilglicerídeos conforme exemplificado na Figura 4, onde é possível verificar a formação de um diacilglicerídeos através de uma reação catalisada por uma base, não sendo descrito todos os produtos de reação.

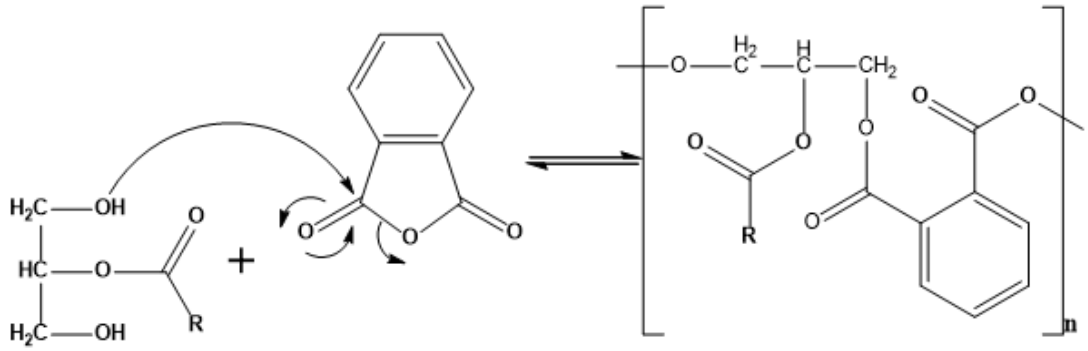
Figura 4 - Exemplificação da formação de um diaacilglicerídeos através da reação de alcoólise



Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011.

Após a formação do produto de alcoólise, que pode levar a formação tanto de monoglicerídeos, como de diglicerídeos, como citado anteriormente, segue a próxima reação (Figura 5), que consiste em uma etapa de esterificação entre os monoglicerídeos ou diglicerídeos formados e o poliácido escolhido para o processo, sendo muito utilizado, no processo, o anidrido ftálico (ASSANVO et al., 2015; VALLEJO et al., 2015; HARTMANN, 2011).

Figura 5 - Esterificação de monoglícerideo com utilização de anidrido ftálico



Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011.

Dessas etapas, de acordo com a mudança dos reagentes, ocorre mudanças consideráveis nas características da resina obtida, conforme descrito por FAZENDA (2005) e HARTMANN (2011), sendo importante ressaltar que, por exemplo, com a mudança do óleo utilizado, ocorrem modificações da cadeia do mono ou diacilglicerídeo obtido devido a mudança na cadeia do óleo e, com isso, nas características conferidas a tinta como o tempo de cura, o tipo de sistema de secagem e a aplicação final do produto (Tabela 4).

Também devem ser ressaltadas mudanças em termos da composição da resina e, principalmente, mudanças no teor de óleo da resina, chamada de comprimento em óleo, que possibilitam mudanças significativas no produto final (Tabela 5).

Tabela 4 – Modificação das propriedades das resinas alquídicas em função da variação do óleo vegetal utilizado e suas principais características

Tipo de óleo	Óleo	Propriedades
Secativo ou Semi-secativo	Linhaça, soja	Solúvel em solventes alifáticos. Películas são flexíveis com brilho e durabilidade razoável
Secativo ou Semi-secativo	Linhaça, soja, girassol	Solúvel em solventes alifáticos ou alifático-aromáticos. Boa secagem, durabilidade e brilho
Não secativo	Coco, mamona cru	Solúvel em solventes alifático-aromáticos. Geralmente utilizado como plastificante para polímeros termoplásticos
Não secativo	Coco, mamona cru	Utilizado em vários sistemas em estufa combinada com melaminas (resinas amínicas)

Fonte: Autora “adaptado de” FAZENDA, 2005.

Tabela 5 - Porcentagens de cada reagente na composição da resina obtida, características do produto e aplicação

Tipo de alquídica	Curta em óleo	Média em óleo	Longa em óleo
% óleo ou ácido graxo	30-45	45-55	55-85
% anidrido ftálico	38-50	30-38	10-30
Tipo de cura	Química ou oxidativa; secagem estufa ou ao ar.	Oxidativa, secagem ao ar	Oxidativa; lenta secagem ao ar
Brilho	Alto	Alto	Alto à semi-brilho
Dureza	Alta dureza	Dureza moderada	Dureza moderada
Área de utilização	Automotivo	Automotivo Industrial Arquitetônico	Industrial Arquitetônico
Aplicação	Pulverização e imersão	Pulverização, imersão e pincel.	Spray, imersão, pincel e rolo.

Fonte: Autora “adaptado de” HARE, 1994 e HARTMANN, 2011.

3.2.2 Produção de resinas alquídicas e composição

Os reagentes mais utilizados industrialmente no processo de produção de resinas alquídicas são os óleos vegetais, provenientes de plantas oleaginosas como a soja, por exemplo, ou seus respectivos ácidos graxos, obtidos pela reação de hidrólise de óleos, os álcool polifuncionais como o etilenoglicol, a glicerina e o pentaeritritol e os poliácidos ou ácidos polifuncionais como o anidrido ftálico, o anidrido trimetílico, o anidrido maléico e o ácido fumárico sendo que, as reações entre os ácidos e álcoois levam à formação de uma estrutura de poliéstreres que, em seguida, reage com ácidos graxos ou óleos, formando a resina desejada.

Conforme a quantidade e as características desses ácidos graxos ou óleos, ocorre a formação da resina, que se comporta de uma maneira diferente para cada tipo de composição de tinta utilizada devido a diferente composição dos óleos vegetais, em termos de variação dos ácidos graxos obtidos (Tabela 6) (ASSANVO et al., 2015; NOSAL et al., 2015; VALLEJO et al., 2015; AGUIA QUIMICA, 2011, HARTMANN, 2011).

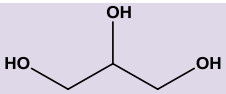
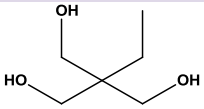
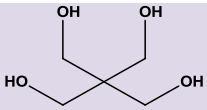
Tabela 6 - Principais derivados de ácidos graxos presentes em cada óleo, fórmula química e propriedade de secagem atribuída ao mesmo devido a composição

Tipo de óleo	Tipo	% média	Fórmula química	Classificação
Linhaça	Linolênico	51	$C_{18}H_{30}O_2$	Secativo
	Oleico	22	$C_{18}H_{34}O_2$	
	Linoleico	17	$C_{18}H_{32}O_2$	
Tungue	Eleosteárico	80	$C_{18}H_{30}O_2$	Secativo
Soja	Linoleico	54	$C_{18}H_{32}O_2$	Semi-secativo
	Oleico	28	$C_{18}H_{34}O_2$	
Mamona crua	Ricinoleico	87	$C_{18}H_{34}O_3$	Não secativo
Coco	Láurico	48	$C_{12}H_{24}O_2$	Não secativo
	Mirístico	17	$C_{14}H_{28}O_2$	
	Palmítico	9	$C_{16}H_{32}O_2$	

Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011.

Com relação ao poliálcool ou álcool polifuncional, a indústria utiliza, principalmente, o etilenoglicol, a glicerina, o pentaeritritol, o trimetilolpropano e neopentilglicol sendo que, destes, a glicerina tem um importante papel na fabricação de resinas alquidicas quando utilizada como reagente inicial durante a etapa de alcoólise, devido as características finais obtidas após a etapa de esterificação e produção da resina e, também, devido ao baixo custo da mesma (Tabela 7) (ASSANVO et al., 2015; NOSAL et al., 2015; VALLEJO et al., 2015; AGUIA QUIMICA, 2011, HARTMANN, 2011).

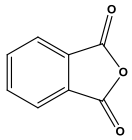
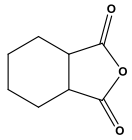
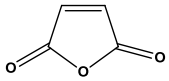
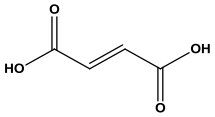
Tabela 7 - Principais álcoois utilizados durante o processo de fabricação de resinas alquídicas e propriedades finais da do produto obtido

Álcoois polihídricos	Estrutura química	Propriedades
Etilenoglicol		Favorece a maior flexibilidade da resina obtida
Neopentilglicol		Favorece a obtenção de uma resina com maior flexibilidade e resistência
Glicerina		Auxilia no aumento da dureza e flexibilidade da resina
Trimetilolpropano		Pode favorecer o aumento da dureza, flexibilidade e resistência da resina
Pentaeritritol		Aumenta a dureza do material

Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011 e HARE, 1994.

Já, na etapa final de obtenção da resina, em que é adicionado o ácido polifuncional, é possível a utilização tanto de ácidos carboxílicos, como o ácido fumárico, ou de anidridos, como no caso de utilização do anidrido maléico, ftálico ou hexahidroftálico, forma mais utilizada na indústria (Tabela 8) sendo que, modificando-se o ácido utilizado, obtêm-se diferentes propriedades da resina final modificando-se características importantes como, maior resistência quando aplicada em ambientes externos bem como propriedades especiais durante a cura e secagem (HARTMANN, 2011 e HARE, 1994).

Tabela 8 - Principais ácidos carboxílicos e anidridos de ácidos carboxílicos empregados durante o preparo de resinas alquídicas e propriedades do produto final

Ácidos polibásicos	Estrutura química	Propriedades
Anidrido ftálico		Muito utilizado principalmente no balanço de propriedades finais da resina
Anidrido hexahidroftálico		Proporciona características superiores as obtidas ao utilizar-se o anidrido ftálico quanto ao retardamento ao amarelecimento em ambientes externos e resistência a hidrólise
Anidrido maléico		Presença de instauração, que promove características especiais durante a cura, secagem e reatividade
Ácido fumárico		Presença de instauração, que promove características especiais durante a cura, secagem e reatividade

Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011 e HARE, 1994.

Ainda com relação à composição, é importante salientar que existe a possibilidade de se obter características diferentes das resinas alquídicas produzidas através da adição química de outras resinas naturais e sintéticas, bem como através da adição de monômeros vinílicos ou acrílicos em sua composição durante a etapa de polimerização conforme demostrado na Tabela 9. Esse processo possibilita não só a melhora nas características da resina, mas também a redução dos custos do processo (HARTMANN, 2011; FAZENDA, 2005).

Tabela 9 - Principais produtos adicionados em resinas alquídicas e características finais obtidas

Modificante	Principais características	
	Vantagens	Desvantagens
Breu	- Velocidade de secagem; - Dureza; - Redução de custo.	- Amarelecimento dos revestimentos; - Menor resistência ao intemperismo (em excesso).
Resinas maléicas	- Velocidade de secagem; - Maior dureza; - Redução de custo.	- Amarelecimento dos revestimentos; - Menor resistência ao intemperismo (em excesso).
Monômeros vinílicos e acrílicos	- Velocidade de secagem ao ar; - Melhor retenção de brilho e de cor; - Resistência química.	- Menor resistência a solventes nas resinas modificadas com estireno.
Resinas fenólicas	- Aderência; - Dureza; - Resistência química.	- Amarelecimento dos revestimentos; - Baixa estabilidade; - Problemas de secagem ao ar.
Isocianatos	- Secagem e endurecimento mais rápido; - Resistência química; - Resistência a abrasão.	- Amarelecimento dos revestimentos; - Maior retenção da cor.

Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011

Assim, todos esses componentes podem ser modificados durante o processo de produção de tintas e, através do desenvolvimento de pesquisas e modificações do processo ao longo dos anos, principalmente os relacionados à obtenção de resinas, as mesmas foram ganhando uma forte importância econômica, destaque devido a facilidade de aplicação e, reconhecidas por serem biologicamente degradáveis devido utilização de óleo e glicerina em sua composição (GÜNER et al, 2006).

3.2.2.1 Primeira etapa de produção: alcoólise

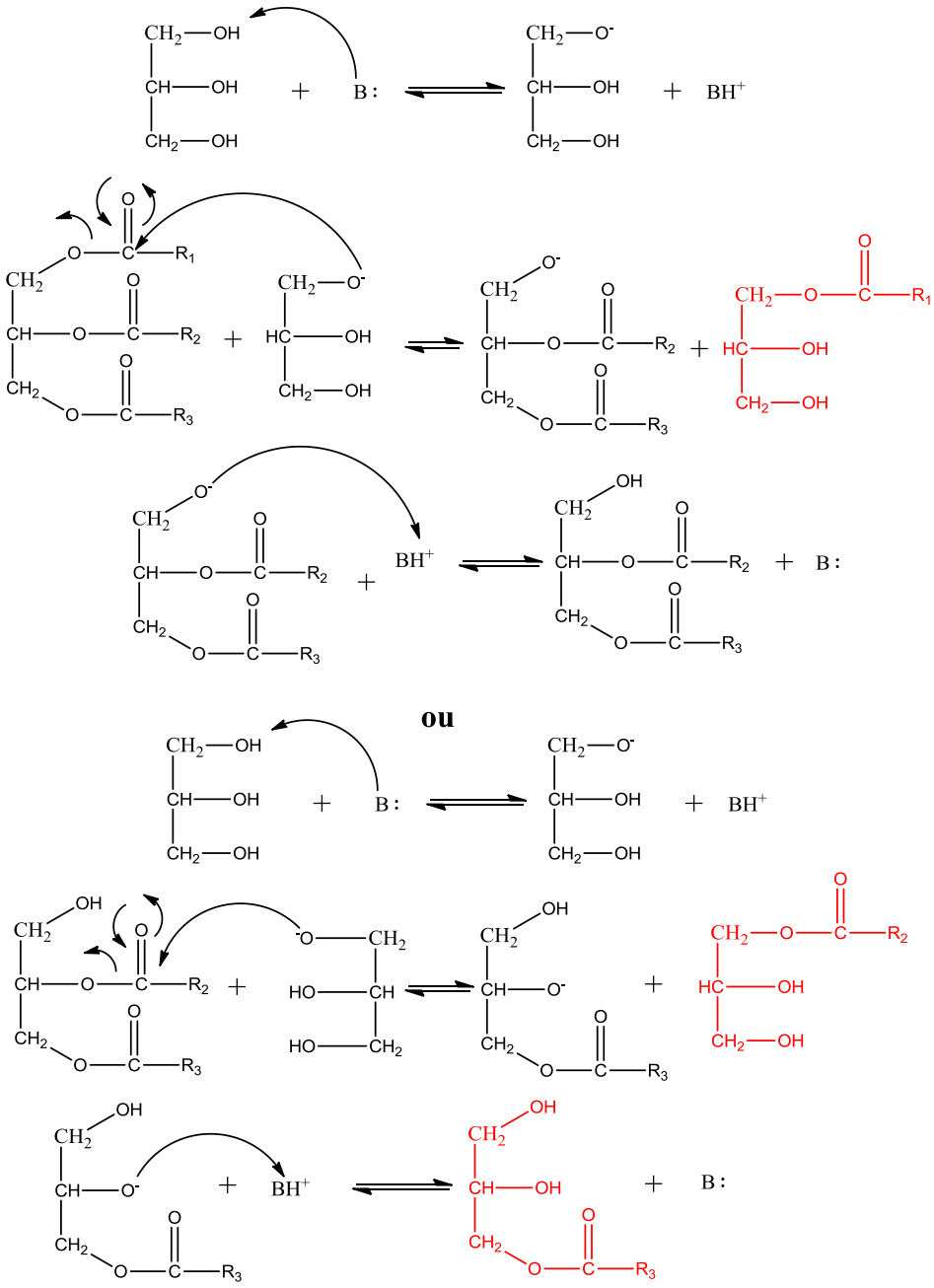
Durante a produção das resinas alquídicas, um dos principais problemas observados é a baixa miscibilidade entre o óleo vegetal empregado, devido a sua composição, com exceção do óleo de mamona, devido a presença de uma hidroxila, e o poliálcool e o poliácido. Assim, uma das maneiras de solucionar esse problema é a realização de uma etapa inicial de reação, a alcoólise ou transesterificação (Figura 6), que favorece o aumento da solubilidade entre os reagentes devido à formação dos acilglicerídeos como o mono ou diacilglicerídeos (HARTMANN, 2011).

Analisando-se o mecanismo de reação apresentado (Figura 6), salienta-se que pode ocorrer tanto a formação de mono, como de diacilglicerídeos e que, em geral, a formação do monoacilglicerídeo é favorecida pelas condições de reação, principalmente pelo fato de se utilizar excesso do poliálcool. Salienta-se também que, o meio básico utilizado é regenerado ao término da reação sendo possível a ocorrência de reações entre o poliálcool e o óleo, bem como a formação direta a partir da quebra da estrutura do óleo (HARTMANN, 2011).

Nessa etapa, o tipo de catálise empregada (ácida, básica ou ainda enzimática) é muito importante, sendo muito comum a utilização de hidróxido de lítio, óxido de cálcio, sais de lítio de ácidos carboxílicos e litargiro, porém, a busca de novos catalisadores, como as enzimas, tem sido muito estudada, principalmente a possibilidade de utilização de lipases, que já estão sendo estudas na produção de biodiesel e que, ainda não apresentam muita aplicação do caso de produção de resinas, mas que, devido as características reacionais, abrem uma nova possibilidade de processo catalítico mais sustentável (HARTMANN, 2011; BARRIOS, 2008; FAZENDA, 2005).

Destaca-se também o fato das enzimas possibilitarem a utilização de condições reacionais mais amenas, principalmente em termos de temperaturas, uma vez que no processo atual, de alcoólise alcalina, são utilizadas temperaturas entre 230 e 250ºC durante aproximadamente 60 minutos sendo necessária a utilização do álcool em excesso visando o aumento do rendimento de reação e a maior formação de monoacilgliceróis, mas desejáveis no processo (HARTMANN, 2011; BARRIOS, 2008; GUPTA et al, 1993).

Figura 6 - Mecanismo simplificado de alcoólise básica de óleos vegetais e formação dos glicerídeos



* B representa a base utilizada

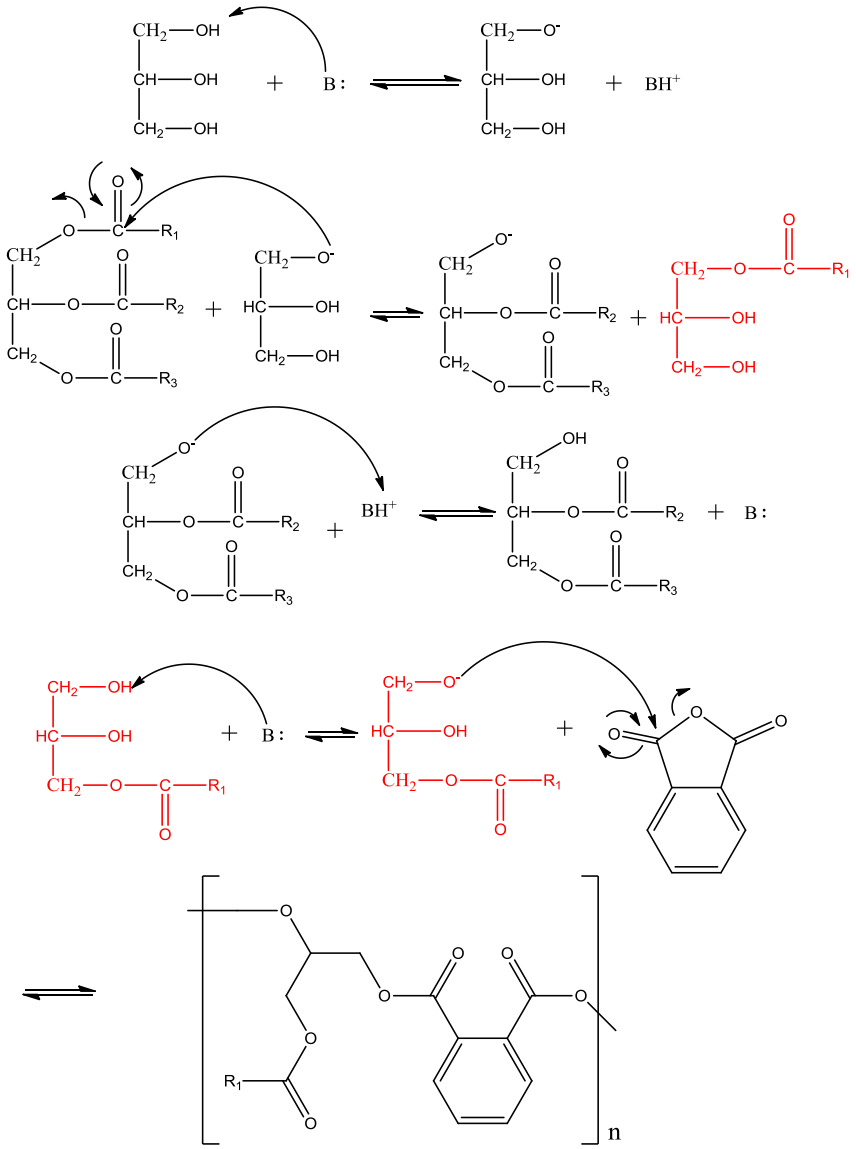
Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011; SUAREZ et al., 2007.

3.2.2.2 Segunda etapa: esterificação e obtenção da resina final

Durante a etapa final de obtenção da resina alquídica, podem ser utilizados dois reagentes de partida, os ácidos graxos ou os monoglicerídeos, mais utilizados atualmente.

Analisando-se o processo de obtenção a partir dos monoglicerídeos (Figura 7), existe a necessidade de utilização de um álcool polifuncional sendo mais utilizado pela indústria, a glicerina, devido a sua funcionalidade e baixo custo conforme salientando em trabalhos realizados por HARTMANN (2011).

Figura 7 - Mecanismo de obtenção das resinas alquídicas a partir de monoglicerídeos

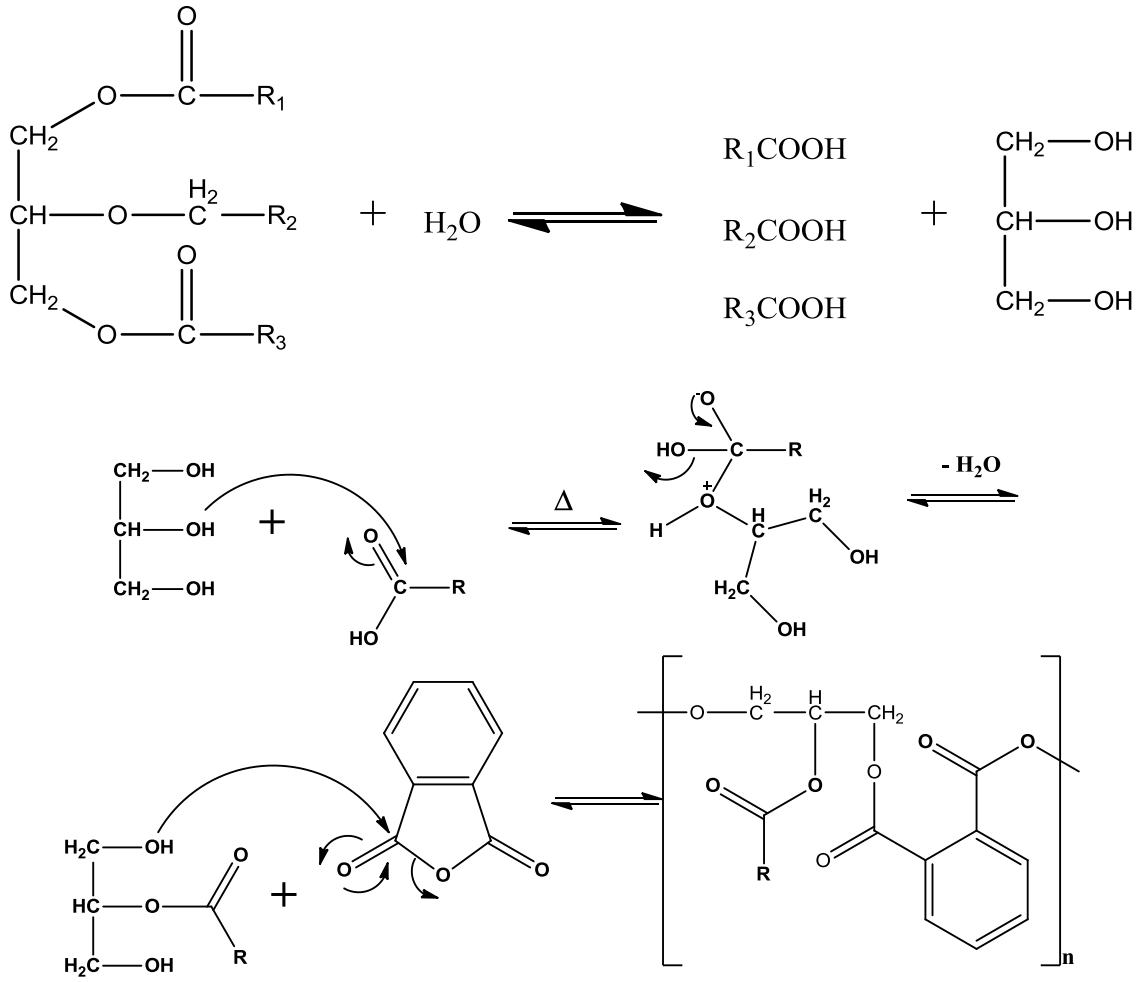


Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011.

Neste caso, durante a etapa de alcoólise, é necessária a utilização de um catalisador básico normalmente e, dessa forma, existe a possibilidade de utilização de lipases como biocatalisadores, conforme demostrado em trabalhos realizados por BARRIOS (2008).

Já no processo de produção de resinas alquídicas a partir de ácidos graxos, existe a necessidade da realização da hidrólise para obtenção dos ácidos graxos e, posterior formação da resina pelo processo de esterificação (Figura 8). Nesse caso, normalmente a indústria adquire diretamente o ácido graxo, o que aumenta o custo do processo, porém, o processo se torna mais rápido (HARTMANN, 2011; THANAMONGKOLLIT, 2008; PATTON, 1961).

Figura 8 - Obtenção dos ácidos graxos e preparação de resinas alquídicas



Fonte: Autora “adaptado de” HARTMANN, 2011.

Salienta-se ainda que, independentemente do método escolhido, a adição de um poliácido, como anidrido ftálico, é necessária para ocorrer à formação da resina alquídica, que ocorre através da reação de esterificação, conduzida entre 180 e 260ºC, dependendo da utilização de um glicerídeo ou de um ácido graxo (BELDER et al, 1981; HARTMANN, 2011).

Também é importante ressaltar que, durante o processo de esterificação,

ocorre formação de água e produtos voláteis que são removidos através de arraste de solvente (xileno, por exemplo), par evitar a ocorrência de reações inversas e, assim, possibilitar o aumento do rendimento (BELDER et al, 1981; HARTMANN, 2011).

3.2.2.3 Processo simplificado de produção das resinas alquídicas em indústrias

Segundo HARTMANN (2011), durante o processo de produção das resinas alquídicas é possível a utilização tanto dos glicerídeos provenientes da alcoólise, como dos ácidos graxos provenientes da hidrólise, sendo necessária, neste caso, a realização de pequenas alterações do processo de produção, devido ao tipo de reação envolvida na etapa inicial de produção (necessidade da realização da alcoólise) aplicação direta de reagentes, como no caso dos ácidos graxos.

Porém, independentemente dessa etapa, durante a produção da resina, existe a necessidade de retirada de água, processo realizado por extração com solventes, que são adicionados numa proporção de 3 a 7 % em peso sobre o total da carga do reator ou por um outro processo denominado de fusão, em que a água é retirada por arraste sendo utilizado, neste caso, um gás inerte, sendo o primeiro mais eficiente e mais aplicado em processos industriais (HARTMANN, 2011).

Assim, o reator utilizado mostra a presença de uma proveta, onde são coletados os vapores tanto de água, como de solvente. O solvente é reaproveitado no sistema e a água separada devido as considerações realizadas anteriormente (HARTMANN, 2011).

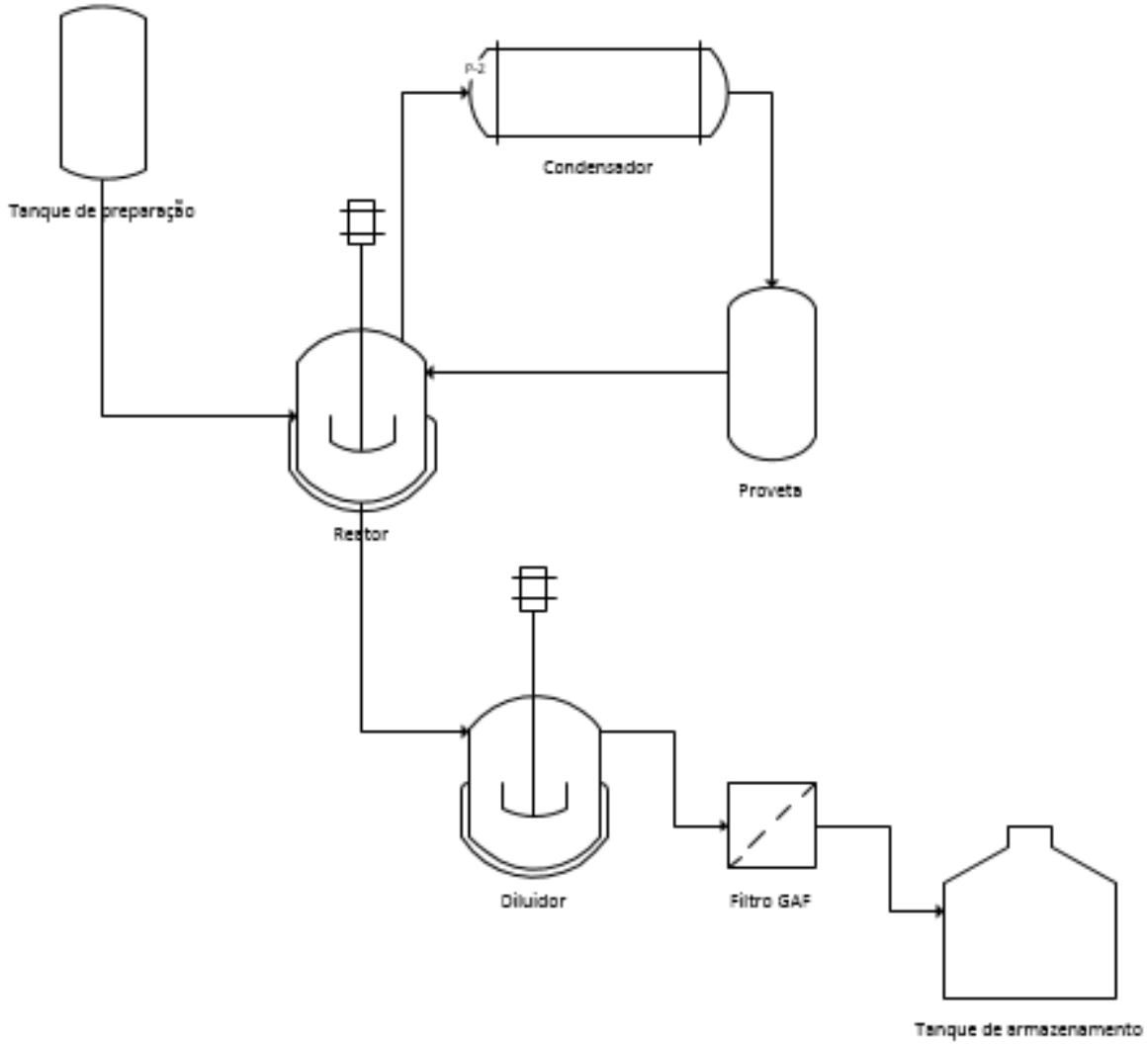
Outro ponto importante no processo é o controle térmico, que favorece a formação dos produtos desejados e impede a obtenção de subprodutos. Esse controle é realizado através de circuitos interligados que integra o sistema de troca térmica, responsável pelo resfriamento (HARTMANN, 2011).

Por último, para a realização dos aquecimentos necessários, utiliza-se uma caldeira sendo o calor transportado da caldeira para o reator, para promoção do aquecimento nas etapas de alcoólise ou acidólise, bem como na etapa de esterificação (HARTMANN, 2011; FAZENDA, 2005).

Dessa forma, é possível verificar na Figura 9, um fluxograma simplificado do processo de produção de resinas alquídicas, sendo identificadas as principais partes

presentes no equipamento.

Figura 9 - Fluxograma simplificado do processo de produção de resinas alquídicas



Fonte: HARTMANN, 2011.

3.3 ENZIMAS

Atualmente, a utilização de enzimas em processos químicos tem crescido muito, bem como os estudos relacionados a sua aplicação. Assim, se torna importante conhecer sua estrutura, saber como as mesmas atuam, bem como a sua classificação.

3.3.1 Definição

As enzimas são estruturas quaternárias de proteínas, isto é, formadas a partir de estruturas terciárias devido à presença de interações inter e intramoleculares, que apresentam estruturas químicas muito complexas e com elevada especificidade devido à presença de um sítio ativo e, em alguns casos, um grupo não proteico, conhecido como coenzima, que age como reagente de transferência de grupos (MORAN et al., 2013; PANDEY et al, 2010; BOM et al, 2008; HATTI-KAUL et al., 2003; FERSHT, 2000; WHEELWRIGHT, 1991; LADISCH et al., 1990; WOLFE, 1995; DIXON et al, 1964).

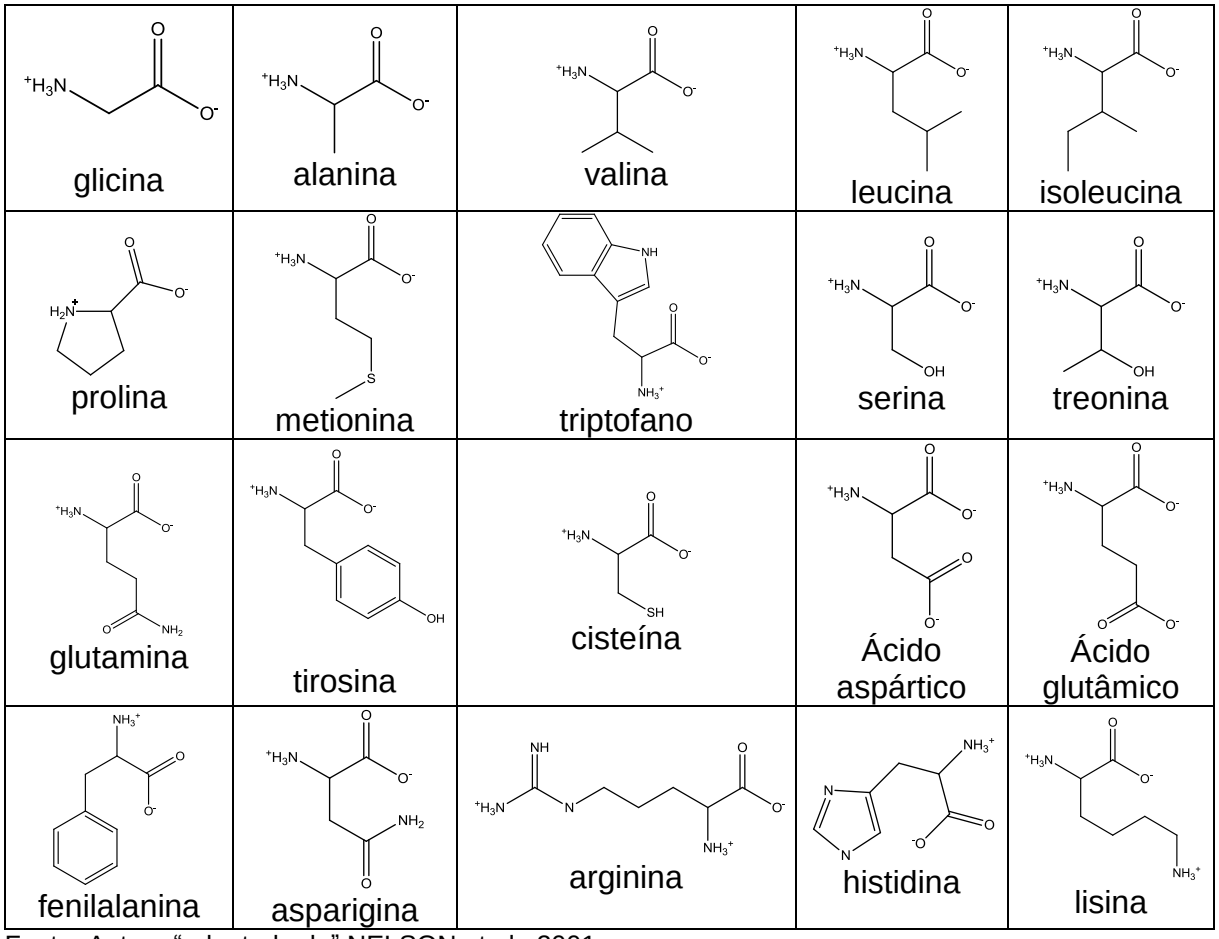
Essas estruturas, devido a essa elevada complexidade, são de difícil cristalização, porém, as mesmas apresentam em sua maioria, elevadas solubilidades em água e álcool diluído, o que favorece o processo de extração com sistemas tamponados para minimizar o efeito de perda de atividade. Também se destaca a sua elevada capacidade de precipitação após a adição de sais, como o sulfato de amônio ou de álcool, como o etanol bem como pela adição de ácido tricloroacético, sendo inativadas pelo calor na maioria das vezes, exceto no caso de enzimas termoestáveis (PANDEY et al, 2010; BOM et al, 2008; HATTI-KAUL et al., 2003; FERSHT, 2000; WHEELWRIGHT, 1991; LADISCH et al., 1990; WOLFE, 1995).

Devido as suas características, como a elevada especificidade, as enzimas são consideradas catalisadores naturais ou catalisadores biológicos extremamente importantes em estudos atuais sendo que, o seu poder como catalisador em reações específicas dependente de sua estrutura, do pH de atuação, do tempo de reação bem como da temperatura e do substrato envolvido no processo, devendo ser salientado que, na maioria das vezes, as enzimas são inativadas pelo aumento da temperatura, o que mostra a importância de se determinar as condições ideais de trabalho (MORAN et al., 2013; PANDEY et al, 2010; BISATTO, 2012; BOM et al, 2008; UYAMA, 2007).

Neste contexto, o conhecimento sobre a sua formação se torna importante, uma vez que enzimas são proteínas, formadas pela interação entre cadeias polipeptídicas formadas por diferentes combinações de aproximadamente 20 aminoácidos principais (Figura 10) que se ligam através da reação entre o grupo carboxila e o grupo amino formando, assim, as ligações peptídicas (Figura 11). Essa sequência de aminoácidos é conhecida como estrutura primária, sendo que dependendo do tipo e tamanho do aminoácido presente na cadeia polipeptídica,

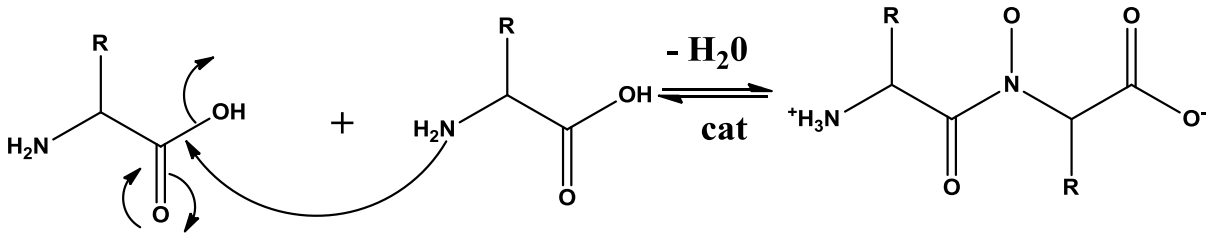
podem ocorrer diferentes interações na cadeia devido à ação de diferentes forças inter e intramoleculares (MORAN et al., 2013; PANDEY et al, 2010; BOM et al, 2008; ILLANES, 2008).

Figura 10 - Estrutura dos 20 aminoácidos essenciais que compõe as enzimas



Fonte: Autora “adaptado de” NELSON et al., 2001.

Figura 11 - Formação de ligação peptídica entre dois α-aminoácidos

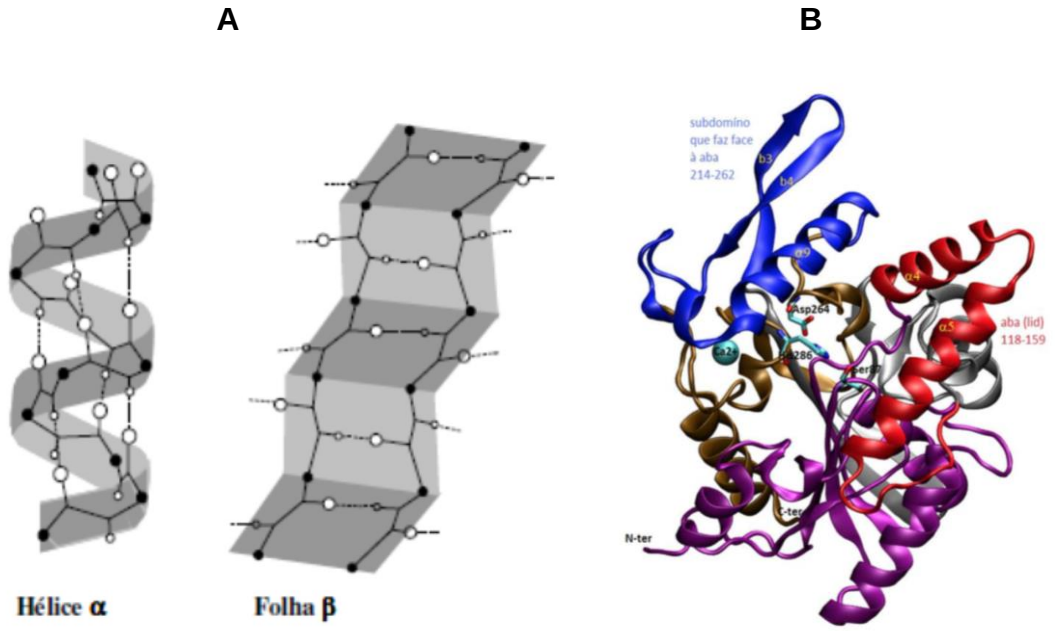


Fonte: Autora “adaptado de” ILLANES, 2008.

Estas sequências de aminoácidos que formaram a estrutura primária podem formar, devido a essas interações, estruturas secundárias, que podem ser apresentar

na forma de α-hélice e β-folhas (Figura 12A) devido à atuação de, principalmente, ligações de hidrogênio e, essas estruturas secundárias, por sua vez, podem formar o que se chama de estrutura terciária devido à presença de interações como as forças do tipo dipolo - dipolo induzido, dipolo-dipolo, interações hidrofóbicas, ligações de enxofre e ligações iônicas devido a presença de forças atrativas entre estruturas de cargas opostas (Figura 12B). As estruturas terciárias, por sua vez, formam as estruturas quaternárias, presentes nas enzimas (WHITTALL, 2010; BORNSCHEUER et al, 2006).

Figura 12 - (A) Exemplificação da estrutura secundária α-hélice e β-folhas; (B) Exemplificação da estrutura tridimensional da lipase



Fonte: Autora “adaptado de” BISATTO, 2012; PFLUCK, 2009

3.3.2 Tipos de enzimas e classificação

Atualmente, diversas enzimas diferentes são conhecidas sendo as mesmas classificadas, normalmente, em função do tipo de reação em que a mesma é empregada como catalisador biológico (Tabela 10), segundo International Union of Biochemistry and Molecular Biology (IUBMB).

Tabela 10 - Classificação das enzimas de acordo com o tipo de reação catalisada e exemplos

Família	Nº de subclasses	Reação catalisada	Exemplos
Oxiredutases	22	Estão envolvidas em reações de oxidação/redução onde ocorrem transferências de elétrons ou de átomos como o hidrogênio e o oxigênio sendo necessária a presença de uma coenzima.	Hidrogenases Oxidases Peroxidases Hidroxilases oxigenases
Transferases	9	Presentes em reações onde ocorrem tranferências de grupos funcionais de um composto para outro sendo necessário, nesse caso, a presença de coenzimas.	Transalciolase Transcetolase Acetiltransferases Alquiltransferases Transferases Glicosiltransferases
Hidrolases	12	Classe de enzimas envolvida em reações de hidrólise sendo que, muitas das enzimas pertencentes as hidrolases não necessitam de coenzimas.	Esterases Tioesterases Glicosilfosfatases Peptidases Hidrolases Fosfatases Pirofosfatases Lipases
Liases	7	Envolvidas em reações de clivagem não oxidativa e não hidrolítica de ligações químicas.	Liases Aldolase Descarboxilases Cetoácidoliases Hidroliases
Isomerase	6	Presentes em reações de isomerização sendo necessária, na maioria das vezes, cofatores.	Isomerases Oxiredutases Transferases
Ligases	6	Envolvidas na formação de ligações covalentes necessitando, muitas vezes, de coenzimas para atuarem.	Carboxilases

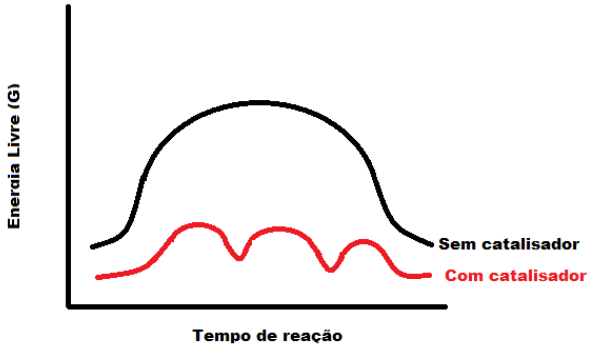
Fonte: Autora “adaptado de” INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY (IUBMB)

3.3.3 Mecanismo de atuação de enzimas

Os mecanismos de atuação enzimática e as interações das enzimas com os substratos podem ser descritos matematicamente com muita precisão, porém, o seu entendimento ainda vem sendo considerado muito difícil, uma vez que, as estruturas quaternárias das enzimas, se mostram altamente específicas, uma vez que são formadas por sequências de aminoácidos distintas que geram interações completamente diferentes em função dessa sequência e que, favorecem a elevada especificidade de cada enzima; devido à presença de diferentes sítios ativos, onde ocorrem as transformações de reagentes a produtos (MORAN et al., 2013; PANDEY et al, 2010; BON et al, 2008; HATTI-KAUL et al., 2003; FERSHT, 2000; WHEELWRIGHT, 1991; LADISCH et al., 1990; WOLFE, 1995).

Porém, da mesma forma que as reações catalisadas quimicamente, as reações biocatalisadas favorecem uma redução da energia envolvida no processo (Figura 13), mas, com algumas vantagens, como a elevada especificidade, e desvantagens, como o custo dos processos enzimáticos (BISATTO, 2012; PANDEY et al, 2010; ILLANES, 2008)

Figura 13 - Comparação da energia envolvida em processos sem e com catalisadores



Fonte: Autora “adaptado de” NELSON et al., 2001.

Tabela 11 - Descrição das principais vantagens e desvantagens de se utilizar enzimas em processos químicos

Vantagens	Desvantagens
Apresenta maior especificidade dos que os catalisadores químicos	Processos de purificação ainda com elevado custo
Possibilidade de utilização de condições amenas durante as reações	Geram aumento do custo de processos
São biodegradáveis, o que favorece processos mais sustentáveis	Podem perder a atividade com facilidade mesmo imobilizadas.
Possível obtenção de fontes naturais	
Menor citotoxicidade	

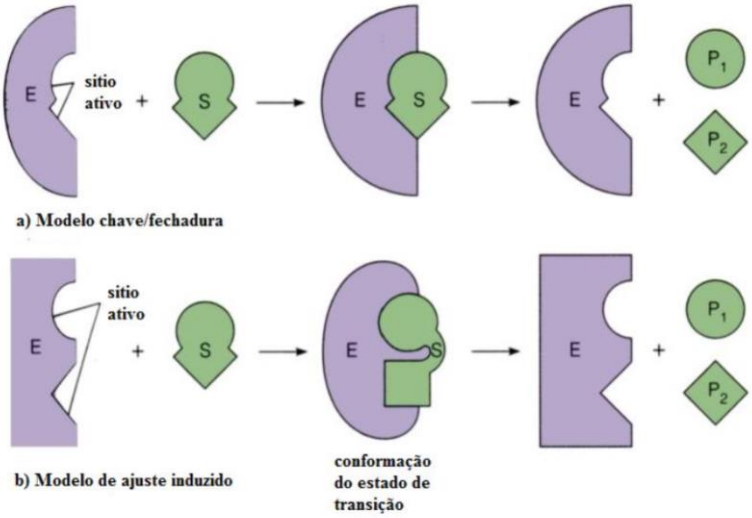
Fonte: Autora “adaptado de” BISATTO, 2012

Ligado as vantagens e desvantagens proporcionadas pelas enzimas, existe também a necessidade de se entender como as mesmas atuam e, assim, possibilitar o desenvolvimento de novas técnicas que possibilitem a redução dos custos de processos através da possível síntese de biocatalisadores ou, através do aperfeiçoamento da técnica de obtenção, purificação e armazenagem.

Assim, levando-se em contam o modelo chave-fechadura proposto por Fischer (1894) (Figura 14A), verifica-se que, para que a reação ocorra através da catálise enzimática, os reagentes devem apresentar uma configuração que permita se encaixar perfeitamente no sítio ativo da enzima, sítio esse que deve ser mantido durante a reação através do controle das condições reacionais, como no caso das alcoólises enzimáticas, através da determinação, principalmente, da temperatura e do pH ideais de reação (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012).

Também, pode-se entender as reações biocatalisadas através da teoria do encaixe induzido (Figura 14B) que, diferentemente da teoria proposta por Fischer, considera que o substrato faz com que ocorra uma mudança na conformação da enzima devido à indução, fazendo com que o sítio catalítico da mesma passe a ter a forma desejada para que a reação ocorra, também com controle de temperatura e do pH (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012).

Figura 14 - (A) Modelo chave fechadura; (B) Modelo de ajuste induzido sendo que: E indica a enzima, S o substrato e P o produto formado



Fonte: BIOQUIMICAS HOME PAGE, 2012.

Ainda, para se conhecer exatamente a eficiência de um processo enzimático, se torna importante a determinação da atividade enzimática que, segundo a União Internacional da Bioquímica é definida como a quantidade de enzima necessária para catalisar a transformação de 1,0 µmol de substrato em 1,0 minuto de reação sob condições padronizadas de temperatura, pH e concentração de reagente utilizado no processo sendo que, essa atividade, é expressa em unidades de atividade (U) e que pode ser monitorada por diversas técnicas analíticas e espectroscópicas (BISATTO, 2012).

É importante ressaltar que, de acordo com os reagentes utilizados no processo, podem ocorrer modificações da atividade enzimática, que pode ser melhorada através de modificações visando a manutenção da estabilidade enzimática e, assim, garantir uma elevada formação de produto.

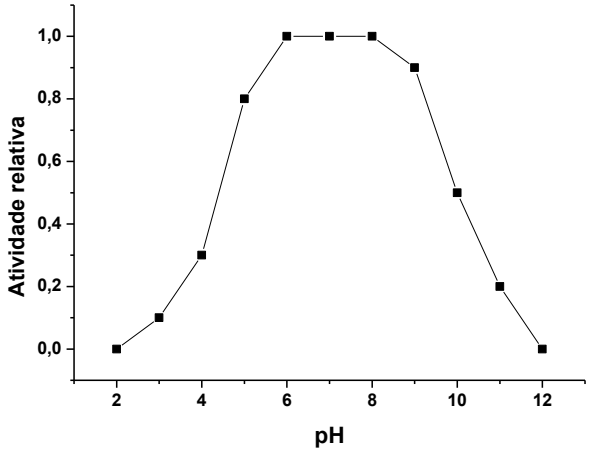
3.3.4 Estabilidade da enzima

A estabilidade da enzima é muito importante em processos biotecnológicos e promovem estudos com o intuito de melhorar a compreensão da estrutura polimérica da mesma e aumentar sua utilização nos mais diversos processos industriais. Neste contexto, algumas estratégias têm como objetivo a melhoria nas propriedades de

reação, tais como a modificação química, a imobilização em matrizes sólidas, a cristalização e a agregação, que possibilita maior resistência a variação de pH, temperatura e presença de solventes, bem como uma maior facilidade de armazenagem (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012; BORNSCHEUER et al, 2006).

Através do avanço dos estudos da estrutura polimérica das enzimas, explicadas pelo modelo de Michaelis e Davidsohn, pode-se compreender que mudanças isoelétricas podem ser promovidas por meio de mudanças de pH do meio que afetam diretamente na ionização dos resíduos de aminoácidos e entender quais as influências dessas mudanças no sítio ativo da enzima, como demonstrado para o complexo enzimático Novozym 435 (Figura 15) (MORAN et al., 2013; BISSATO, 2012; ILLANES, 2008).

Figura 15 - pH ótimo observado para a lipase Novozym 435



Fonte: Autora “adaptado de” BISATTO, 2012

Já com relação à temperatura, esta é uma das variáveis mais relevantes em sistemas biológicos, pois pode provocar a inativação da enzima, na maioria das vezes, em função do rompimento das interações inter e intramoleculares responsáveis pela manutenção da estrutura tridimensional ou ruptura de ligações covalentes ou não-covalentes, levando a redução da atividade biocatalítica (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012).

Neste sentido, o aumento da temperatura aumenta a velocidade de reação, mas também pode provocar a inativação da enzima devido a desnaturação da mesma, principalmente se submetida a elevadas temperaturas durante um tempo prolongado,

exceto no caso de enzimas termoestáveis (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012; ILLANES, 2008).

Esse efeito pode ser mais bem explicado analisando-se a Equação 1, que mostra o equilíbrio cinético para processos enzimáticos, através da relação entre a constante cinética da reação com a energia livre de Gibbs (MORAN et al., 2013; BISATTO, 2012).

$$\mathbf{K} = \mathbf{K_0}^{\frac{\Delta \mathbf{H}^0}{\mathbf{RT}}} \qquad \text{Equação 1}$$

Onde: T representa a temperatura, K a relação k_2/k_1 que envolvem a associação entre enzima substrato e a formação do produto.

Além da temperatura e do pH, destaca-se também a importância da realização de estudos referentes ao tempo ótimo de catálise bem como das quantidades de reagentes ideais visando a eficiência máxima enzimática sendo esses estudos facilitados pela utilização de planejamentos estatísticos.

3.4 AS LIPASES E SEU MECANISMO DE REAÇÃO

Uma das classes de enzimas que têm sido mais estudadas atualmente são as hidrolases, na qual estão inseridas as Lipases, como a Novozym 435, descrita na literatura, como presente em duas formas: a ligada covalentemente à resina acrílica macroporosa e, a adsorvida fisicamente, sendo que, em ambos os casos, a funcionalização da superfície com diaminas propicia a posterior imobilização de enzimas e, assim, o aumento da atividade enzimática (BISATTO, 2012; JOSÉ et al., 2011; MILETÍC et al., 2009).

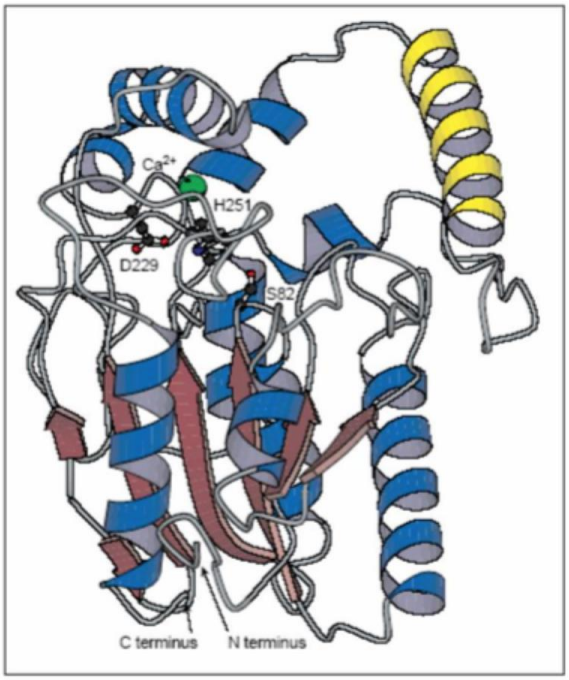
Elas estão sendo muito estudadas devido a sua capacidade de aplicação tanto na síntese, como a hidrólise de ésteres, como os óleos vegetais, que nada mais são do que trialcilglicerídeos (WIDMANN et al., 2010 apud BISATTO, 2012).

Fontes como animais e vegetais são possíveis na obtenção das lipases, porém, microrganismos como os fungos *Candida antartica*, a *Candida rugosa*, a *Candida cylindracea*, o *Aspergillus niger*, o *Penicillium roruefortí*, o *Rhizopus delemar* e o *Rhizomucor miehei* e as bactérias *Pseudomonas cepacia*, a *Pseudomonas*

flourescens, o *Pseudomonas* species, têm se mostrado fontes promissoras devido ao rápido crescimento e, assim, possíveis redução no custo de produção devido ao aumento da capacidade produtiva (BISATTO, 2012; YASUKAWA et al., 2004; KUMAR et al., 2003; MONTEIRO et al., 2001).

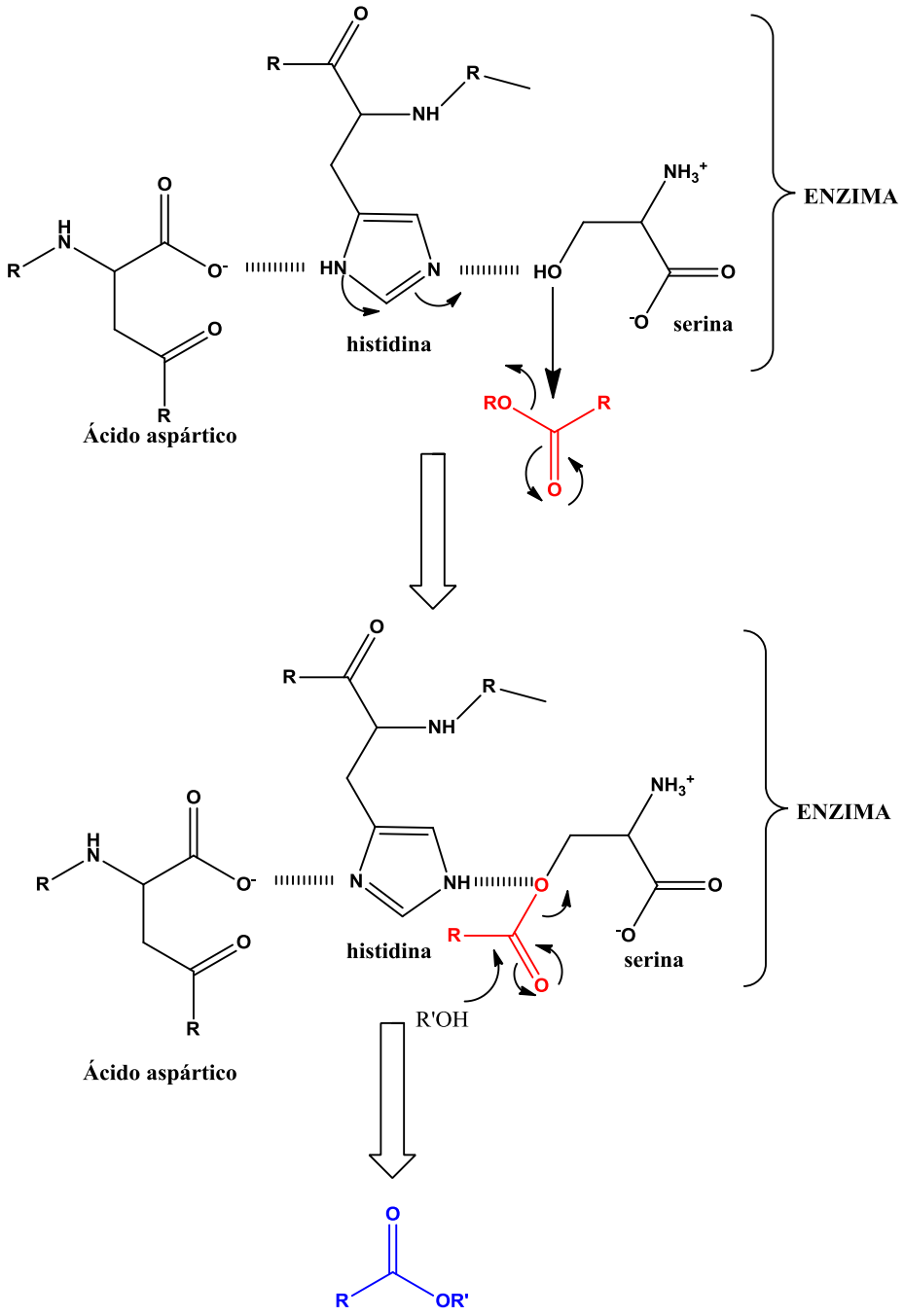
Com relação as suas características próprias, relacionadas com a sua atividade específicas em reações de transferência de grupos, as lipases mostram a presença de oito fitas paralelas conectadas por α-hélices (Figura 16) bem como a presença de um sítio ativo formado pelos aminoácidos serina, histidina e ácido aspártico ou glutamato, que são responsáveis pela sua atividade, que ocorre através de um ataque nucleofílico ao éster e, posterior, substituição de grupos, ocorrendo a reação (Figura 17) (BISATTO, 2012; BARRIOS, 2008).

Figura 16 - Estrutura da lipase de *Pseudomonas cepacia*



Fonte: BISATTO, 2012.

Figura 17 - Mecanismo de reação catalisada por lipases



Fonte: Autora “adaptado de” BISATTO, 2012.

Através do mecanismo de transferência de grupos demonstrado, as Lipases são capazes de catalisar inúmeras reações tanto de compostos solúveis em água, como de compostos solúveis em solventes que não proporcionem a inatividade da enzima, em sistemas bifásicos e em suspensões, destacando-se as reações transesterificação para obtenção de biodiesel, as hidrólises de óleos vegetais, as alcoólises, as acidólises e as aminólises (PANDEY et al., 1999).

3.5 ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

Atualmente, a realização de processos catalisados por enzimas, têm aumentando significativamente, como nos casos de aplicação de lipases em processos envolvendo a conversão de óleos e gorduras, que têm sido foco de inúmeras pesquisas, principalmente relacionadas à produção de biodiesel, por possibilitarem sustentabilidade de processos (BASRI et al., 1995).

Porém, para a realização das reações de biocatálise utilizando-se lipases, como no caso da alcoólise existe a necessidade de estudos referentes ao pH, temperatura, concentrações enzimáticas e tempo ideais de reação, que são facilitados pelo uso de planejamentos experimentais e possibilitam a determinação com maior agilidade, da condição ótima reacional e, assim, uma maior conversão dos reagentes a produtos e uma maior aplicabilidade industrial (MORAN et al., 2013; BASRI et al., 1995; MALCATA et al., 1990; MARTINEZ et al., 1988).

Esses estudos têm avançado mais no campo de produção de biodiesel do que em relação à aplicação na produção de resinas, como no caso das alquídicas, principalmente devido ao elevado custo da enzima, o que faz com que aumente o custo de produção e o torne inviável, nos dias atuais, porém, abrindo uma possibilidade futura.

3.6 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Atualmente, durante a determinação das melhores condições reacionais, muitas indústrias estão utilizando planejamentos experimentais que consistem em definir as variáveis que mais influenciam o processo (chamadas de variáveis de entrada), bem como de que maneira serão coletados e analisados os resultados obtidos e quantos testes serão realizados para se obter resultados confiáveis em uma dada região analisada, com o menor número de experimentos possíveis (RODRIGUES et al., 2005; TAHARA, 2010).

Porém, para escolha do planejamento, deve ser caracterizado o problema, e definida as variáveis de influência (entrada) e as variáveis de saída dos experimentos (resultados que serão analisados), bem como determinado o planejamento que será utilizado, sendo possível a aplicação de quatro planejamentos principais:

a) completamente aleatorizado com um único fator: Utilizado quando somente uma variável experimental está sendo analisada;
b) fatorial: Utilizado quando vários fatores devem ser estudados paralelamente sendo importantes as interações entre essas variáveis;
c) fatorial 2^k em blocos: Utilizado quando o número de experimentos necessários para o planejamento levando-se em conta todas as variáveis em 2 níveis é muito grande para que sejam realizados sob condições homogêneas e;
d) fatorial 2^k fracionário: Apropriado quando existem muitas variáveis e não existe a possibilidade de se obter informações em todos os tratamentos.

Por fim, após a realização dos experimentos e obtenção dos resultados, é necessária a realização da análise das mesmas, através de métodos estatísticos, utilizando gráficos e tabelas. Também deve ser comprovada a validade ou não do método de planejamento adotado (TAHARA, 2010).

3.6.1 Delineamento composto central rotacional (DCC)

Delineamento de Experimentos (DOE) é um dos mais utilizados tipos de planejamentos utilizados para o ajuste de modelos de até segunda ordem, compreendido por testes realizados de forma programada, no qual as variáveis principais são selecionadas e controladas a fim de avaliar-se a sua influência sobre as respostas desejadas no experimento a ser otimizado. Este método é aplicado para se otimizar um processo, fazendo-se necessário o planejamento de um experimento para avaliar os efeitos que suas variáveis de entrada têm sobre as variáveis de saída escolhidas (MYERS et al., 1995; RODRIGUES et al., 2005).

Os delineamentos são utilizados, principalmente, na parte inicial da pesquisa, quando se deseja verificar quais fatores devem ser controlados ou quando não se sabe muito sobre o sistema a ser estudado, economizando-se assim no número de ensaios (PERÁZIO, 2010).

Segundo HAALAND (1989) apud CHAVES (2008), existem três tipos de delineamentos possíveis para se otimizar experimentos onde pretende-se estudar duas ou três variáveis, sendo elas: Análise Univariada, Matriz de Combinações e Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), um dos mais utilizados na determinação de condições ótimas reacionais.

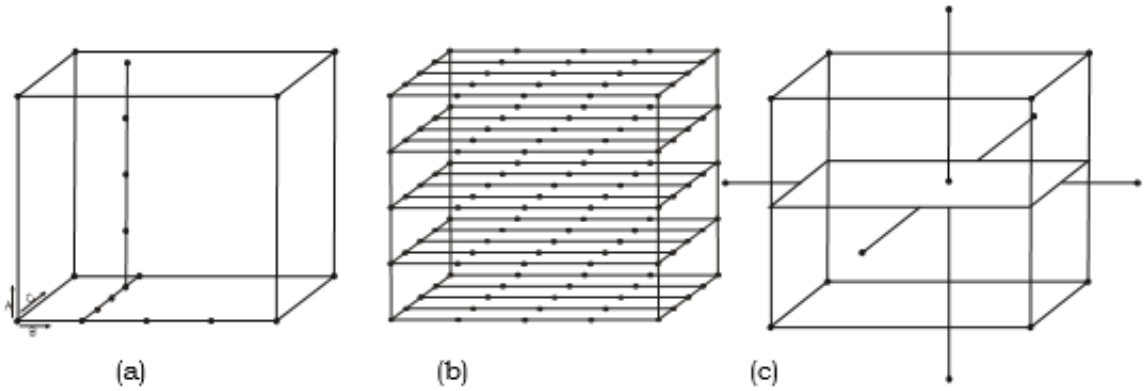
Neste sentido, define-se análise univariada (Figura 18a) como um

planejamento em que é avaliada uma determinada variável em diferentes condições e, os demais fatores são fixados, o que causa baixa eficiência devido ao fato de não ser possível a determinação de possíveis relações entre a variáveis estudada e as variáveis fixas.

Já no modelo descrito como Matriz, todas as combinações de variáveis (Figura 18b) são estudadas através da definição de uma matriz, utilizada para a realização dos estudos até se obter uma resposta final. O fato de se utilizar uma matriz para a realização da varredura apresenta como principal vantagem a exploração de todo espaço amostral, porém, devido ao tipo de combinação utilizada, leva a realização de muitos experimentos (CHAVES, 2008)

Com relação ao modelo de Planejamento Experimental Fatorial (Figura 18 (c)), destaca-se como principal vantagem a utilização de um número reduzido de experimentos durante a exploração de toda a região que se deseja estudar, o que faz com que o tempo e número de experimentos seja reduzido. Assim, durante a utilização desse planejamento, são realizados dezessete ou dezesseis experimentos, conforme o número de pontos centrais utilizados (dois ou três), pontos esses que levam a determinação do erro experimental. Esse planejamento ainda permite a obtenção de um modelo matemático que pode ser utilizado para a obtenção das superfícies de resposta ou de contorno e otimização do processo pela determinação das melhores condições reacionais. (MYERS et al., 1995).

Figura 18 - (a) Análise Univariada; (b) Matriz com todas as combinações e (c) Delineamento Composto Central Rotacional



Fonte: CHAVES, 2008

É importante ressaltar que o número de variáveis independentes (fatores a

serem estudados) é de extrema importância na determinação do número de experimentos necessários sendo mais comum a realização de estudos com duas ou três variáveis de entrada no planejamento chamado de Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) também conhecido como Planejamento Fatorial com Pontos Axiais ou ainda Planejamento Estrela no qual é possível a realização das análises dos resultados através superfície de resposta gerada ou até mesmo através da análise dos resultados utilizando-se a função de desejabilidade, em que é possível a determinação das melhores condições de análise levando-se em conta restrições desejadas (RODRIGUES et al., 2005; CUSTÓDIO et al, 2000).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados os materiais, equipamentos e metodologias descritos no decorrer do presente trabalho visando tanto a obtenção da resina alquídica, bem como a caracterização dos intermediários e da própria resina.

4.1 MATERIAIS

Durante a realização do presente projeto, foi utilizada a enzima Novozym 435, gentilmente doada pela Novozymes Latin América, (diâmetro de partículas entre 0,3-0,9 mm, densidade aproximada de 430 kg/m^3 contendo 1-2 % de água massa/massa e atividade enzimática expressa em unidades de laureato de propila por grama (PLU/g), de 10.000 PLU/g). Além da enzima citada, foram utilizados: óleo de soja utilizado para fins alimentícios (Lisa), glicerina (≤ 100%), tetrahidrofurano (THF) (≥99,9 %) e *terc*-butanol (≥ 99,5 %) (grau PA), fornecidos pela Dinâmica Reagentes Químicos, acetona (≥99,9 %) e acetonitrila (≥99,9 %) (grau CLAE) fornecidos pela Sigma Aldrich.

Também foram utilizados anidrido ftálico (99,5 %) fornecido pela Petrom, xileno fornecido pela Merck (98,5 %) e aguarrás mineral fornecida pela Petrobrás distribuidora, concedidos pela BASF S.A. Todos esses reagentes apresentam grau comercial.

4.2 EQUIPAMENTOS

Durante o desenvolvimento das sínteses e das caracterizações, foram utilizados:

a) shaker Innova 43 Eppendorf International;
b) cromatógrafo Shimadzu composto por bombas LC-20AD, detector de Índice de Refração RID-10A, Detector UV SPD-20A, Forno para coluna CTO-20A e controlador CBM-20A, coluna Shim-pack CLC-ODS (C18) 4,6 mm X 150 mm com pré coluna CLC-ODS;
c) reator de inox com capacidade aproximada de 3L, provido de aquecimento/resfriamento elétrico, controle digital de temperatura com uma

casa decimal, condensador de bolas com retorno de solvente de refluxo, inertização de N_2 e agitação (BASF).

4.3 MÉTODOS

Durante o estudo da obtenção de resinas alquídicas utilizando-se a Lipozyme 435 na etapa de alcoólise foram necessárias etapas de caracterização do óleo de partida, alcoólise, esterificação e caracterizações. Assim, todas as metodologias utilizadas encontram-se descritas no presente trabalho.

4.3.1 Caracterizações do óleo de soja

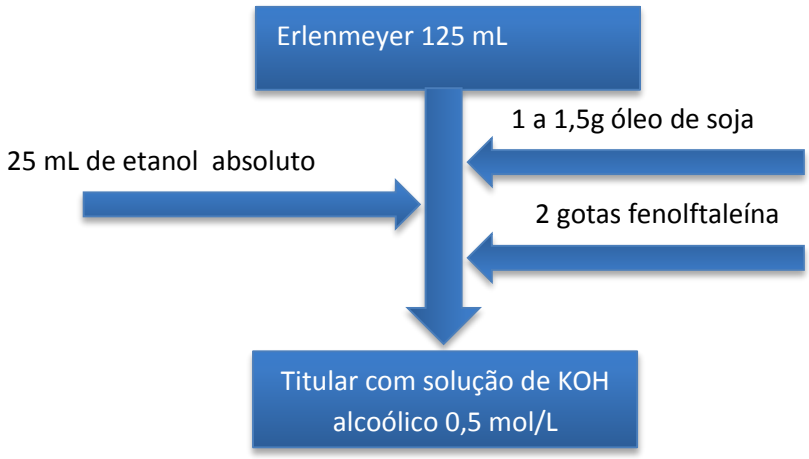
Durante o processo de obtenção de resinas alquídicas, a primeira etapa consistiu na realização da alcoólise, sendo que para a realização da mesma, foi necessária a caracterização da matéria prima de partida, o óleo de soja. Assim, foram determinados o índice de acidez segundo a norma AOCS Cd 3d-63 adaptada, o índice de saponificação segundo a norma AOCS Cd 3b-76 adaptada e, com esses dados, foi calculada a massa molar média do óleo, necessária para a determinação da estequiometria de reação.

4.3.1.1 Determinação do índice de acidez

Através da determinação do índice de acidez foi possível verificar a qualidade do óleo empregado no processo, uma vez que, valores elevados indicam uma maior hidrólise do produto, o que desfavorece processos em meio básico. Com relação aos processos enzimáticos, o índice de acidez modificará o mecanismo envolvido bem como o rendimento da reação.

Destaca-se também que o índice de acidez é necessário para a determinação da massa molar média do óleo conforme equação 2. Desse modo, 1,0 a 1,5 g de óleo foram misturados a 25 mL de etanol absoluto sob agitação. A mistura foi, então, titulada com solução de KOH alcoólica 0,5 mol/L (Figura 19).

Figura 19 - Fluxograma referente a determinação do Índice de Acidez do óleo de soja



Fonte: Autora

$$(\mathbf{IA} = (\mathbf{28,04} * \mathbf{V} * \mathbf{f}))/\mathbf{m} \qquad \text{Equação 2}$$

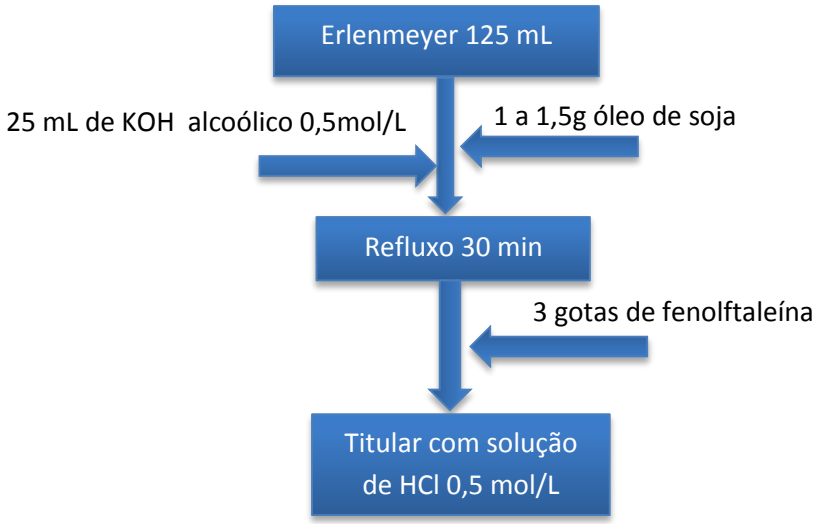
Onde: IA representa o Índice de Acidez, V o volume gasto durante a titulação, f o fator de correção da solução de KOH e m a massa de amostra de óleo pesada.

4.3.1.2 Determinação do índice de saponificação

O Índice de Saponificação, juntamente com o índice de acidez, permite a determinação da massa molar, sendo que o mesmo expressa à quantidade de base necessária para saponificar uma quantidade de óleo, previamente definida. É expresso em termos de número de miligramas de hidróxido de potássio necessário para saponificar 1,0 g de amostra.

Assim, durante a determinação do Índice de Saponificação, 1,0 a 1,5 g de óleo foram misturados com 25 mL de solução alcoólica de KOH 0,5 mol/L. A mistura foi, então, aquecida, sob refluxo, durante 30 min. Após esse período, a mistura foi resfriada e titulada com solução de HCl 0,5 mol/L (Figura 20). O índice de saponificação foi calculado utilizando-se a equação 3.

Figura 20 - Fluxograma referente a determinação do Índice de Saponificação do óleo de soja



Fonte: Autora

$$\mathbf{IS} = ((\mathbf{Vb} - \mathbf{V}) * \mathbf{28,04} * \mathbf{f})/\mathbf{m} \qquad \text{Equação 3}$$

Onde: IS representa o índice de saponificação, Vb o volume gasto durante a titulação do branco, V o volume gasto durante a titulação da amostra e m a massa de óleo pesada.

4.3.1.3 Determinação da massa molar média

Uma das características químicas mais importantes durante a etapa de alcoólise é a determinação da massa molar do óleo, uma vez que com ela, é possível a determinação da estequiometria reacional e, com isso, a modificação nos teores de monoglicerídeos e diglicerídeos final.

Porém, a massa molar do mesmo não pode ser calculada diretamente, devido à presença de diferentes cadeias na formação dos óleos vegetais. Assim, durante a determinação da massa molar média do óleo de soja, foi utilizada a relação expressa na Equação 4 que leva em consideração o cálculo do índice de acidez e do índice de saponificação.

$$\bar{\mathbf{M}}_{\mathbf{oleo}} = \frac{3*\mathbf{M_{KOH}}}{\frac{(\mathbf{I_S}-\mathbf{I_A})}{1000}} \ldots \bar{\mathbf{M}}_{\mathbf{oleo}} = \frac{3000*56{,}03}{\mathbf{I_S}-\mathbf{I_A}} \qquad \text{Equação 4}$$

Onde:

M_{KOH}: massa molar de KOH;

IS: indice de saponificação;

IA: indice de acidez;

$\bar{M}_{oleo}$: massa molar media do oleo.

4.3.2 Determinação do solvente de reação e da atividade enzimática para produção monogliceróis e digliceróis

Tendo em vista que a função principal da enzima nesta aplicação é a maximização de conversão do óleo de soja em monogliceróis e digliceróis, verificou-se, inicialmente, o melhor solvente a ser empregado durante o processo de alcoólise, bem como a atividade enzimática da Novozym 435 na presença dos solventes escolhidos, utilizando-se uma adaptação da metodologia descrita por RICHETTI (2009).

Assim, durante a determinação da atividade enzimática para produção de mono e diacilgliceróis, foram adicionados 5,0 g de ácido oleico, 4,885 g de glicerina e 5 mL de cada um dos solventes testados (hexano, *terc*-butanol, tetrahidrofurano e água) em um erlenmeyer de 125ml. Após agitação, foram adicionados 0,25 g de enzima e a mistura foi submetida, por 40 minutos, a agitação vigorosa de 300 rpm em um shaker Innova 43 (fabricante Eppendorf International) a 50 ºC. Atingido o tempo especificado, foram adicionados 20mL de mistura acetona/etanol 1:1, a fim de parar a reação, e a mistura foi titulada com solução de KOH alcoólica 0,5 mol/L (Figura 21).

A atividade enzimática da Novozym 435 foi determinada para cada um dos solventes empregados, utilizando-se a equação 5.

$$\textbf{Atividade}\left(\frac{\mathbf{U}}{\mathbf{g}}\right) = \frac{[\mathbf{V_{KOH\ branco} - V_{koH\ após\ 40\ min}}]}{\mathbf{tm_{amostra}}} \mathrm{x1000xc} \qquad \text{Equação 5}$$

Onde:

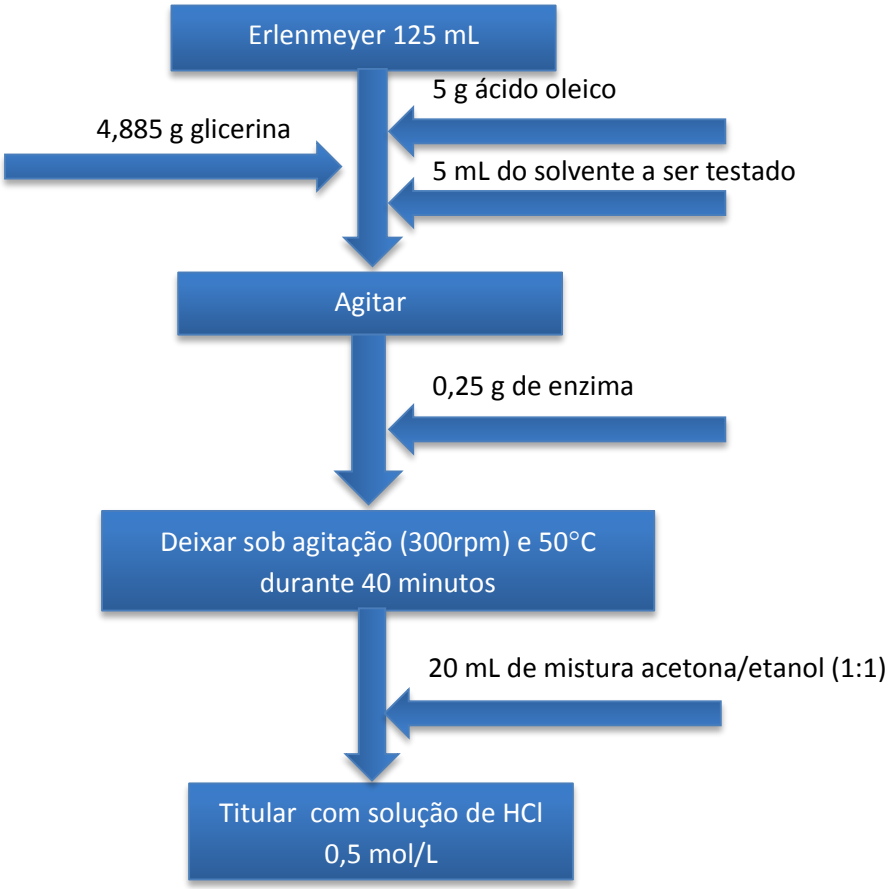
Atividade (U/g) representa a quantidade de enzima necessária para consumir 1 µmol de ácido oleico por minuto (U), nas condições reacionais

V (mL) de KOH branco representa o volume gasto na titulação sem inserção de enzima;

V (mL) de KOH após 40 min representa o volume gasto na titulação com inserção de enzima;

c (g / mL) a concentração da solução, t (min) o tempo e $m_{amostra}$ (g) a massa da amostra.

Figura 21 - Fluxograma referente à determinação da atividade enzimática para produção de monogliceróis



Fonte: Autora

4.3.3 Alcoólise com enzima

Após a verificação do melhor solvente para a realização do processo de alcoólise, foram realizados experimentos variando-se a concentração de enzima, a relação óleo/glicerina, bem como a temperatura de processo (Tabela 12) visando a determinação da melhor condição para a obtenção de um elevado percentual de monoglicerídeos e diglicerídeos. Os ensaios foram realizados utilizando-se um erlenmeyer de 125 mL com boca esmerilhada, nos quais foram pesados 10g de óleo de soja e, posteriormente, foram adicionados glicerina, solvente e enzima, conforme planejamento descrito na Tabela 12. As amostras preparadas, em duplicata, foram colocadas em um shaker sob agitação de 300 rpm e deixadas por 40 minutos a fim de obter os parâmetros ótimos de realização da alcoólise.

Tabela 12 - Valores dos parâmetros a serem testados

Amostra	Temperatura (ºC)	Relação óleo / glicerina (mol óleo /mol glicerina)	% catalisador (em relação a massa de óleo)
1	50,0 (0)	3,50 (0)	2,63 (-1,68)
2	50,0 (0)	5,18 (+1,68)	6,00 (0)
3	50,00 (0)	1,82 (-1,68)	6,00 (0)
4	50,00 (0)	3,50 (0)	6,00 (0)
5	50,00 (0)	3,50 (0)	9,36 (+1,68)
6	50,00 (0)	3,50 (0)	6,00 (0)
7	60,00 (+1)	2,50 (-1)	8,00 (+1)
8	60,00 (+1)	4,50 (+1)	8,00 (+1)
9	60,00 (+1)	4,50 (+1)	4,00 (-1)
10	60,00 (+1)	2,50 (-1)	4,00 (-1)
11	40,00 (-1)	4,50 (+1)	4,00 (-1)
12	40,00 (-1)	2,50 (-1)	4,00 (-1)
13	40,00 (-1)	2,50 (-1)	8,00 (+1)
14	40,00 (-1)	4,50 (+1)	8,00 (+1)
15	66,82 (+1,68)	3,50 (0)	6,00 (0)
16	33,18 (-1,68)	3,50 (0)	6,00 (0)

Fonte: Autora

Após a realização das alcoólises nas diferentes condições, as amostras foram caracterizadas via CLAE utilizando-se como fase móvel um gradiente Isocrático 60 %

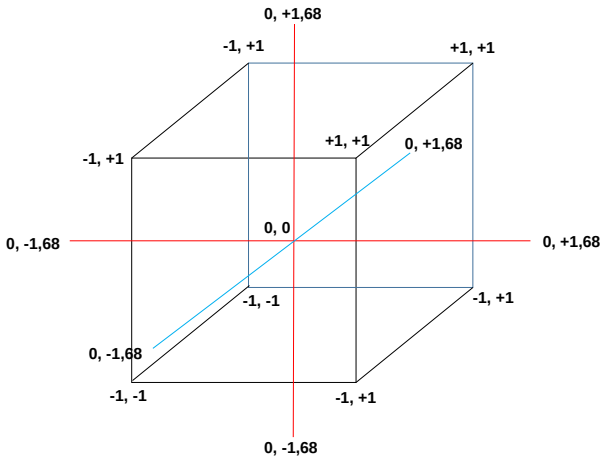
acetona e 40 % acetonitrila. O detector utilizado foi o de Índice de refração e o fluxo de 0,6 mL/min.

4.3.3.1 Planejamento experimental

A determinação do planejamento de experimentos a ser utilizado para encontrar as melhores condições reacionais depende do número, e de quais parâmetros principais se deseja controlar. Assim, durante a realização da etapa de alcoólise do presente trabalho, foi utilizado o planejamento estatístico Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR) sendo os resultados avaliados através das superfícies de resposta da função de desejabilidade. Também foram avaliadas as variáveis que mais influenciaram no processo e verificada a eficiência do modelo adotado.

Dessa forma, foram selecionadas três variáveis de entrada, fundamentais para a determinação das condições de reação, no caso das alcoólise enzimáticas (temperatura, relação óleo/glicerina e porcentagem de catalisador) resultando, assim, num planejamento fatorial 2^3, com seis pontos axiais e dois centrais, totalizando dezesseis experimentos, realizados em duplicata (Figura 22).

Figura 22 - Planejamento utilizado durante a realização dos experimentos



Fonte: Autora

Com relação as variáveis de saída, foram monitorados os teores finais de monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos sendo estes, monitorados por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).

Os resultados referentes aos teores de acilglicerídeos foram analisados utilizando-se o programa STATISTICA 12.0, sendo calculados os efeitos de cada variável (temperatura, relação óleo/glicerina e porcentagem de catalisador) utilizando-se um limite de confiança de 95 % e verificadas as variáveis que mais influenciaram na produção de mono e diglicerídeos, principalmente.

Também foram obtidas as superfícies de resposta e de contorno que auxiliam na verificação da influência de cada parâmetro no aumento ou diminuição dos teores de glicerídeos.

Neste caso, através da análise dos resultados e, utilizando-se a Equação 6, em que X_1, X_2 e X_3 representam as variáveis de entrada, e β_0, β_1, β_2 e β_3, β_{11}, β_{22} e β_{33}, β_{12}, β_{13} e β_{23} representam respectivamente o ponto de interseção e os pontos referentes aos efeitos lineares e quadráticos, foi possível a determinação das equações que representam a variação nos teores de glicerídeos nas amostras submetidas a alcoólise sendo determinado, inclusive, o erro em cada caso (NETO et al, 2007; RODRIGUES et al., 2005; CALADO et al, 2003).

$$y = \beta_0 + \beta_1.x_1 + \beta_2.x_2 + \beta_3 x_3 + \beta_{11}.x_1^2 + \beta_{22}.x_2^2 + \beta_{33}x_3^2 + \beta_{12}.x_1.x_2 + \beta_{13}x_1x_3 + \beta_{23}x_2x_3 \quad \text{Equação 6}$$

Esses resultados puderam ser melhor evidenciados utilizando-se a função de desejabilidade, onde foi possível, através da utilização de restrições, a determinação da condição que possibilitasse a maior conversão do óleo a monoglicerídeos e diglicerídeos.

4.3.3.2 Determinação do tempo ótimo de alcoólise

Além do tempo, da relação óleo/glicerina e da porcentagem de catalisador, foi também realizado um estudo, separado, para a determinação do tempo ótimo de reação e, desta forma, foram realizados ensaios, em duplicata, conforme descrito no item 4.3.3, utilizando amostras com os melhores parâmetros obtidos após a análise dos dados obtidos utilizando-se o planejamento estatístico, variando-se os tempos em 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 horas. As amostras também foram avaliadas via CLAE utilizando-se as mesmas condições descritas no item 4.3.3.1.

4.3.4 Caracterização do produto de alcoólise

Para a obtenção da resina através da continuidade do processo, foi necessário caracterizar o produto de alcoólise obtido nas melhores condições em relação a concentração de enzima, relação glicerina/óleo, temperatura e tempo de reação. Assim, o produto de reação foi caracterizado através da determinação da solubilidade em metanol e via CLAE utilizando-se a metodologia descrita no item no item 4.3.3.1.

4.3.4.1 Solubilidade em Metanol

O teste de solubilidade em metanol é muito utilizado durante a produção de resinas alquídicas para a obtenção de uma estimativa do grau de transesterificação do óleo durante a primeira etapa, a alcoólise e, assim, verificar a possibilidade de realização da segunda etapa, a esterificação e obtenção da resina.

Dessa forma, durante a realização do teste, foram adicionados, em uma proveta de 10 mL, o produto da alcoólise (mistura de acilglicerídeos) e pequenas quantidades de metanol. Após a realização de cada adição de metanol, a mistura foi homogeneizada e verificado o aspecto em relação a transparência, conforme descrito por FAZENDA (1995), até a obtenção do primeiro aspecto turvo. Desta forma, é considerada ideal a amostra com 200 a 300% de solubilidade.

4.3.5 Esterificação da resina

O avanço da resina (etapa de esterificação) foi realizado nos laboratórios da BASF para segurança do processo e pela facilidade de infraestrutura.

Assim, o produto de alcoólise preparado sob as condições otimizadas foi submetido ao processo de obtenção da resina, em um reator de inox com capacidade aproximada de 3L, provido de aquecimento/resfriamento elétrico com controle de temperatura digital de precisão com uma casa decimal, condensador de bolas com retorno de solvente de refluxo, inertização de N_2 e agitação. As matérias primas foram adicionadas, seguindo a formulação descrita na tabela 13, obedecendo a ordem de adição dos itens, após obtenção da alcoólise e filtração do material a vácuo. Todos os itens foram pesados em uma balança semi analítica Toledo, disponível nos laboratórios da BASF S.A.

A reação foi efetuada até obter-se acidez e viscosidade desejadas (menor que 12 e entre Z a Z2, respectivamente), e a resina foi diluída em solvente definido na formulação (Tabela 13) até obtenção das propriedades finais da resina (Figura 23).

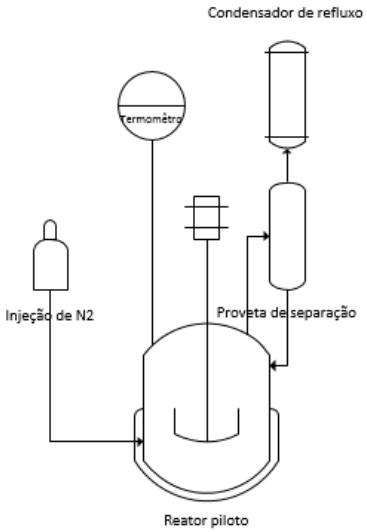
Tabela 13 - Formulação de resina utilizada

Formulação da Resina		
Óleo de soja	34,024	kg
Glicerina	7,077	kg
THF	10,723	kg
Lipozyme 435	1,286	kg
Glicerina	2,644	kg
Anidrido Ftálico	10,526	kg
Xileno	0,717	kg
Aguarrás Mineral	33,003	kg

Fonte: Autora

Cabe salientar que, com relação ao solvente utilizado na alcoólise, foi optada pela utilização de THF, apesar do custo um pouco mais alto, devido ao fato do *terc*-butanol ter apresentado incompatibilidade na fase de avanço da resina com as outras matérias primas da formulação.

Figura 23 - Esquema de síntese de enzima em laboratório



Fonte: Autora “adaptado de” ABRAFATI, 2015

4.3.6 Caracterização da resina alquídica

Após a obtenção da resina, etapa final do trabalho, a mesma foi caracterizada através da viscosidade Gardner, do índice de acidez e da cor Gardner.

4.3.6.1 Viscosidade gardner

A viscosidade Gardner normalmente é expressa por uma letra sendo que, a mesma é determinada comparando-se o valor obtido com o valor da viscosidade relativa com que uma bolha de ar se desloca através do líquido. Assim, utilizam-se padrões para determinação da viscosidade da amostra.

Dessa forma, a determinação da viscosidade Gardner da resina final foi realizada segundo a norma ASTM D1545, através da imersão da amostra, em um tubo padrão de vidro transparente de fundo chato MT, grau A (diâmetro interno de 10,650 ± 0,025mm e comprimento externo de 114 ± 1mm) lacrado com uma rolha, em um banho-maria sob temperatura de 25 ± 1ºC.

Após a determinação da viscosidade da amostra, a mesma foi comparada com uma série de tubos de viscosidade padrão, selado, contendo líquidos com viscosidade expressa em Stokes e em segundos, espaçados através da utilização de logaritmos, com incrementos de, aproximadamente, 26,0 % (Figura 24) sendo a escala completa dos tubos padrões de Gardner de A5 (menor viscosidade = 0,005 Stokes) até Z10 (maior viscosidade = 1000 Stokes).

Figura 24 - Tubos padrão para determinação da viscosidade Gardner

Fonte: Autora

Dessa forma, levando-se em conta as considerações realizadas, a reação de esterificação para a obtenção da resina alquídica nas condições ideais foi acompanhada, verificando-se a viscosidade de Gardner da amostra com 50 % de sólidos utilizando-se, para chegar nessa concentração, aguarrás. Essa avaliação foi realizada a cada hora de reação. Todas as amostras analisadas foram deixadas

durante 5 minutos em banho-maria a 25 ± 1ºC, sendo o resultado obtido comparado diretamente com padrões de viscosidade.

4.3.6.2 Índice de acidez

Durante a etapa final de obtenção da resina, através da reação de esterificação, verificou-se o índice de acidez da amostra a 50 % de sólidos em aguarrás a cada hora. Essa análise foi realizada utilizando-se a norma ASTM D1639, sendo a amostra diluída com uma mistura de xileno/etanol 1:1 titulada com KOH 0,1M. O cálculo do índice de acidez foi realizado seguindo-se a equação 4 descrita no item 4.3.1.3.

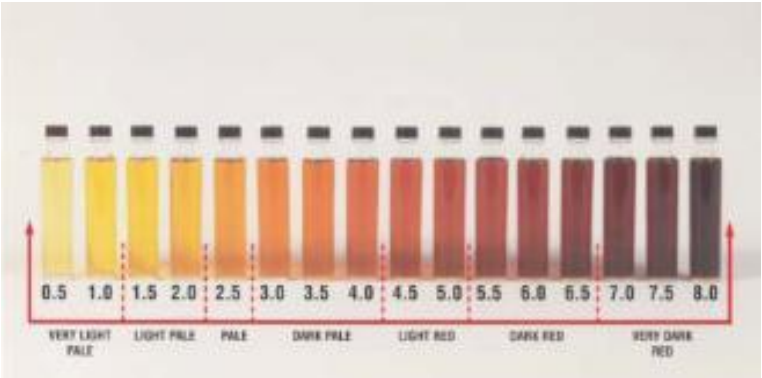
Dessa forma, para a determinação do índice de acidez da resina, inicialmente a amostra foi diluída e, após essa diluição, a mesma foi titulada com solução de hidróxido de potássio utilizando-se fenolftaleína para determinação do ponto final da titulação.

4.3.6.3 Cor gardner

A cor Gardner é extremamente importante durante a análise de resinas e, consiste na determinação da cor de amostras líquidas através da comparação da cor das amostras com as cores de soluções padrão Gardner sendo utilizada, para isso, uma iluminação apropriada.

Dessa forma, durante a análise da resina alquídica obtida durante a realização do presente trabalho, a cor Gardner foi determinada segundo a norma ASTM D1544, comparando-se as amostras com os padrões sendo a escala composta de 18 tubos em que o primeiro apresenta uma coloração bem clara levemente amarelada e o último, uma coloração marrom avermelhada (Figura 25).

Figura 25 -Escala Gardner utilizada para determinação de cor Gardner



Fonte: Autora

4.3.7 Recuperação da enzima

A fim de tornar o processo economicamente viável devido ao alto custo relacionado a utilização da enzima, foi verificado a possibilidade de recuperação da enzima e, posterior determinação da atividade da mesma, através de um processo de lavagem com dois tipos de solvente de baixo custo (tetrahidrofurano e acetona). Para isso, a enzima utilizada no processo de alcoólise foi submetida a tratamento com solvente, através de lavagem da enzima, até obtenção de filtrado límpido, sem traços de óleo e/ou contaminantes. Foram utilizados 150 mL para cada 10 g de enzima. Os resultados de atividade foram comparados para verificação do melhor solvente testado, utilizando-se a metodologia descrita anteriormente no item 4.3.2.

4.3.8 Análise econômica

A fim de se estimar o montante econômico que deverá ser empregado na produção da fórmula descrita na tabela 13 (item 4.3.2), com utilização da enzima, foi determinado o custo de cada matéria prima unitária por quilo e calculado o custo total da fórmula. O mesmo cálculo foi empregado para a fórmula sem a utilização da enzima, ou seja, com a utilização de catalisador químico, com o objetivo de comparação das mesmas.

Era também de interesse deste trabalho, o cálculo de custo fixo direto necessário para a produção das resinas (com e sem catalisador enzimático). Para isso, dividiu-se o cálculo em cinco principais itens: custo necessário para o

planejamento, custo da provisão das matérias-primas, custo da ocupação do ativo (lead time dentro do reator), custo de análise LCQ (considerando-se para isto as horas/homem necessárias para avaliação das análises de processo e análises da resina final) e, finalmente, o custo hora/homem para a produção da resina.

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Com o objetivo de obtenção de resinas alquídicas utilizando-se a reação de alcoólise enzimática, foram realizadas etapas de caracterizações dos reagentes e produtos bem como etapas de tratamentos de dados utilizando-se o Programa Statistica 12.0.

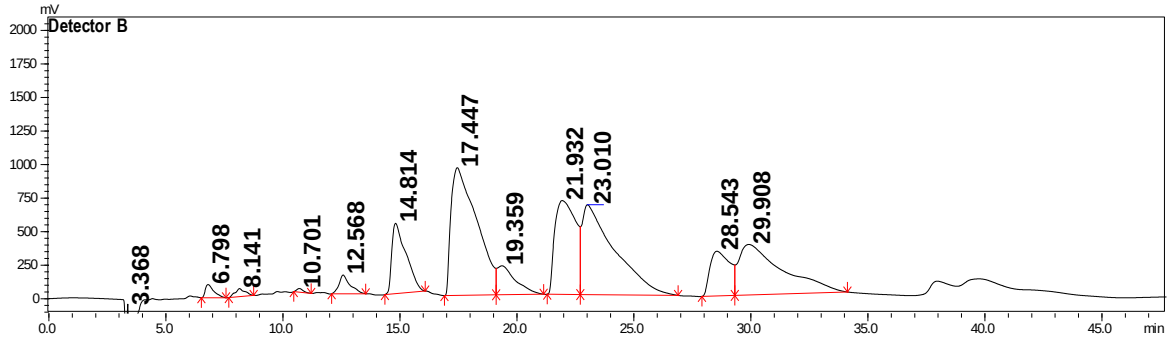
5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE SOJA

Durante a obtenção de resinas alquídicas, torna-se necessário, inicialmente, a caracterização do óleo utilizado na primeira etapa de obtenção da resina, a alcoólise. Assim, o mesmo foi caracterizado através da determinação do índice de acidez, índice de saponificação e determinação da massa molar média, dados necessários para a determinação das quantidades utilizadas durante a otimização do processo de alcoólise.

Analisando-se os resultados obtidos referentes ao índice de acidez (1,0013 ± 0,1152 mg KOH/g), verifica-se que o teor de ácidos graxos livres se encontrou dentro do limite de especificação indicado pelo fabricante (menor que 2 g ácido oleico/100 g), o que indica que o óleo é ideal para a realização do processo de alcoólise, devido ao elevado teor de triacilglicerídeos.

Também foi verificado um índice de saponificação de 182,27 ± 11,16 mg KOH/g (faixa de especificação informado pelo fabricante entre 180 – 200 mg KOH/g), que confirma o bom estado de conservação do óleo, conforme evidenciado na análise via CLAE, ilustrado na Figura 26, sendo determinada a composição do óleo em termos de monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos e que foram de 0,80; 2,24 e 93,38 %, respectivamente (CAMPESTRE, 2015).

Figura 26 - Cromatograma obtido experimentalmente referente ao óleo de soja



Fonte: Autora

Além da caracterização inicial do óleo, foi determinada a massa molar média do mesmo de 927,30 g/mol, dado necessário para a realização de todos os cálculos necessários para a determinação da melhor condição de alcoólise enzimática. Esse dado foi obtido levando-se em consideração o índice de acidez e o índice de saponificação, conforme descrito no item 4.3.1.3.

5.2 ESCOLHA DO SOLVENTE DE REAÇÃO E DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ENZIMÁTICA

Após a caracterização do óleo, também foi necessária a determinação da atividade enzimática da Novozym 435, utilizando-se diferentes solventes, conforme método descrito no item 4.3.2. Esse estudo foi realizado devido à necessidade de utilização de solventes para a realização da alcóolise visando o aumento da compatibilidade entre a enzima, o óleo e o poliálcool, a glicerina.

É importante ressaltar que a enzima Novozym 435 foi escolhida pelo fato das lipases serem uma das classes de enzimas mais utilizadas em processos biocatalíticos, por catalisarem a hidrólise de triacilgliceróis, de diacilglicerol, monoacilglicerol, glicerol e ácidos graxos livres. Porém, a reação ocorre, normalmente, sob condições anidras e a enzima é capaz de sintetizar novas moléculas por esterificação, transesterificação e alcoólise. Mas, devido à baixa compatibilidade entre os reagentes, existe a necessidade de se utilizar solventes (NOVOZYMES, 2015).

Apenas para efeito de comparação do melhor solvente a ser escolhido, foram verificadas as atividades da enzima, conforme item 4.3.2, e foram obtidos os

respectivos valores: atividade de 15 U/g utilizando-se o hexano, 51,5 U/g ao utilizar-se o *t*-butanol, 36,5 U/g ao utilizar-se o tetrahidrofurano (THF) e 33 U/g ao utilizar-se água (Tabela 14).

Tabela 14 - Atividade da enzima Novozym 435 frente a diferentes solventes

Solvente	Hexano	t-butanol	THF	Água
$V_{titulado}$	6	20,6	14,6	13,2
$V_{titulado}$ x c x 1000	3000	10300	7300	6600
t x $m_{amostra}$	200	200	200	200
Atividade (U/g)	15	51,5	36,5	33

$V_{titulado}$ (mL) é o volume de KOH gasto na titulação; c (g/mL) a concentração da solução, t (min) o tempo de reação e $m_{amostra}$ (g) a massa da amostra.
Fonte: Autora

É importante salientar que não foi realizada a comparação entre os dados de atividade obtidos pelo fornecedor com os dados obtidos em laboratório devido ao fato de ter sido realizada uma adaptação da metodologia para os reagentes utilizados no processo, o que leva a uma mudança de conversão devido ao maior impedimento causado pela glicerina e, assim, a redução significativa da atividade enzimática. Salienta-se também que, o objetivo dessa etapa, foi somente a determinação do solvente mais adequado. Assim, foi escolhido o *t*-butanol para a realização de todas as reações de alcoólise posteriores.

Com relação aos demais solventes, a baixa atividade ao utilizar-se o hexano pode ser explicada pela elevada toxicidade do mesmo, frente às lipases. Salienta-se também que, embora a atividade tenha apresentado um valor relativamente alto em meio aquoso, a água não se mostrou uma boa opção devido à baixa solubilidade de óleos na mesma e ao risco de reação reversa, caso a mesma permanecesse no sistema livre, o que levaria a presença de elevado teor de ácidos graxos.

5.3 OTIMIZAÇÃO DA ALCOÓLISE ENZIMÁTICA

Após a caracterização do óleo e determinação da atividade da enzima, foram realizadas análises via CLAE dos principais produtos da reação de alcoólise do óleo de soja (monooleína, dioleína, monolinoleína e dilinoleína). Esses padrões foram

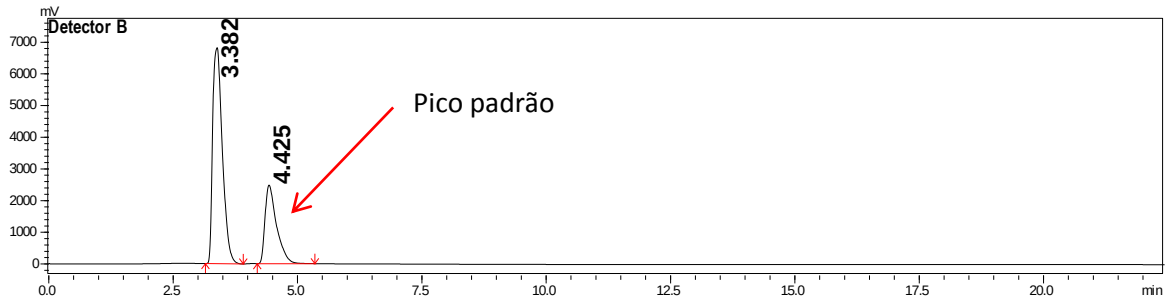
escolhidos baseados na composição do óleo de soja (Tabela 15), que auxiliaram na identificação da região do cromatograma em que cada grupo de compostos (monoglicerídeos, diglicerídeos ou triglicerídeos) estaria presente. Os cromatogramas característicos de cada um desses padrões encontram-se nas Figuras 27 a 32.

Tabela 15 - Composição do óleo de soja em termos de ácidos graxos

Ácido Graxo	Fórmula molecular	Estrutura	Porcentagem
Ácido mirístico	$CH_3(CH_2)_{12}COOH$	$C_{14}H_{28}O_2$	0,12
Ácido palmítico	$CH_3\ (CH_2)_{14}COOH$	$C_{16}H_{32}O_2$	11,44
Ácido palmitoléico	$CH_3\ (CH_2)_5(CH)_2(CH_2)_7COOH$	$C_{16}H_{30}O_2$	0,16
Ácido esteárico	$CH_3(CH_2)_{16}COOH$	$C_{18}H_{36}O_2$	4,14
Ácido oléico	$CH_3\ (CH_2)_7(CH)_2(CH_2)_7COOH$	$C_{18}H_{34}O_2$	23,47
Ácido linoléico	$CH_3(CH_2)_4(CH)_2CH_2(CH)_2\ (CH_2)_7COOH$	$C_{18}H_{32}O_2$	53,46
Ácido linolênico	$CH_3CH_2(CH)_2\ CH_2(CH)_2CH_2(CH)_2\ (CH_2)_7COOH$	$C_{18}H_{30}O_2$	6,64
Outros	-	-	0,57

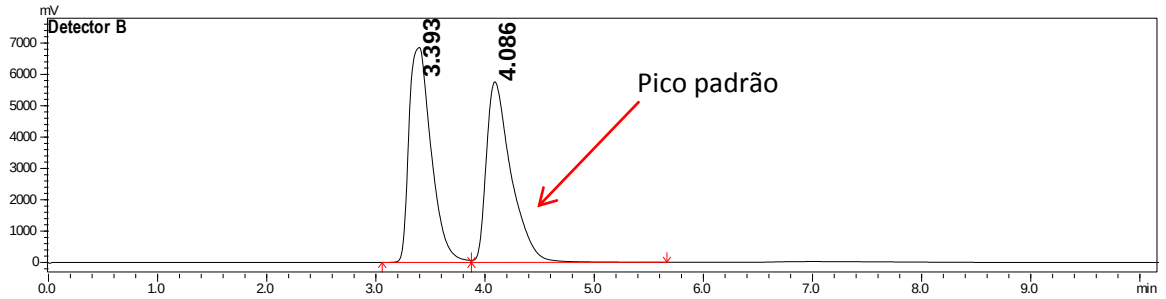
Fonte: Autora “adaptado de” ZHU et al., 2016

Figura 27 - Cromatograma de referência obtido para a monooleína



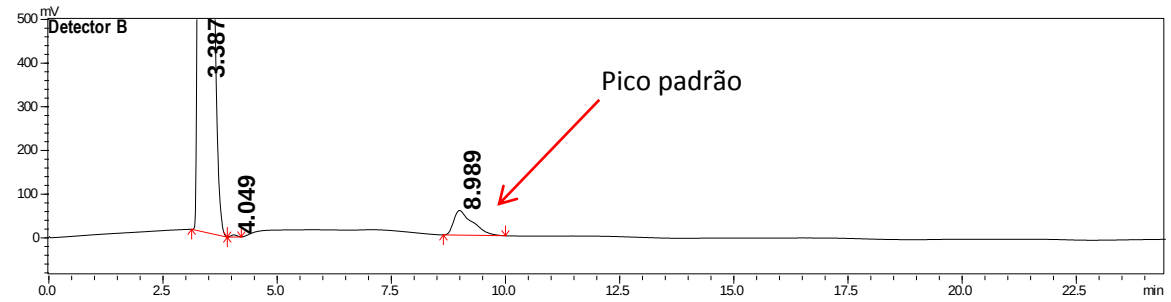
Fonte: Autora

Figura 28 - Cromatograma de referência obtido para a monolinoleína



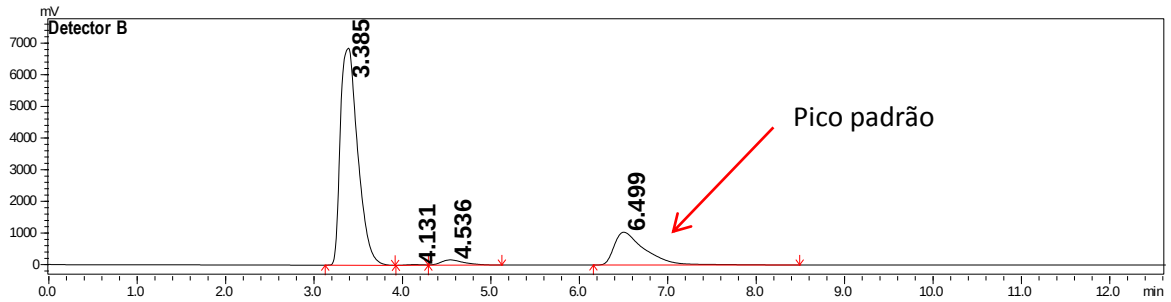
Fonte: Autora

Figura 29 - Cromatograma de referência obtido para a dioleína



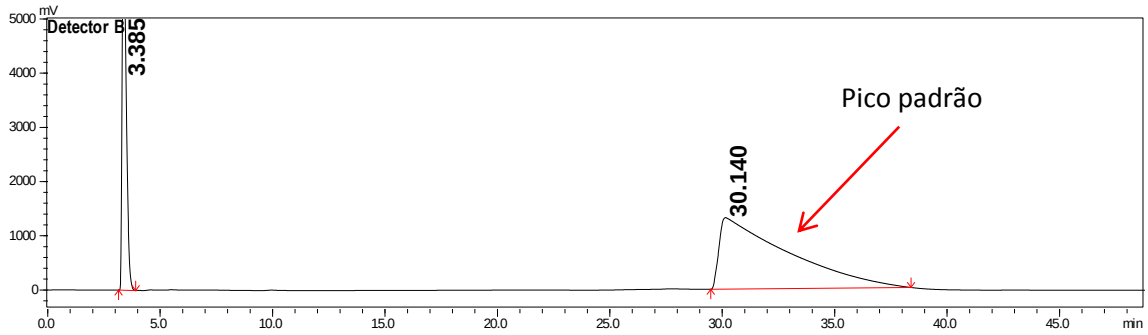
Fonte: Autora

Figura 30 - Cromatograma de referência obtido para a dilinoleína



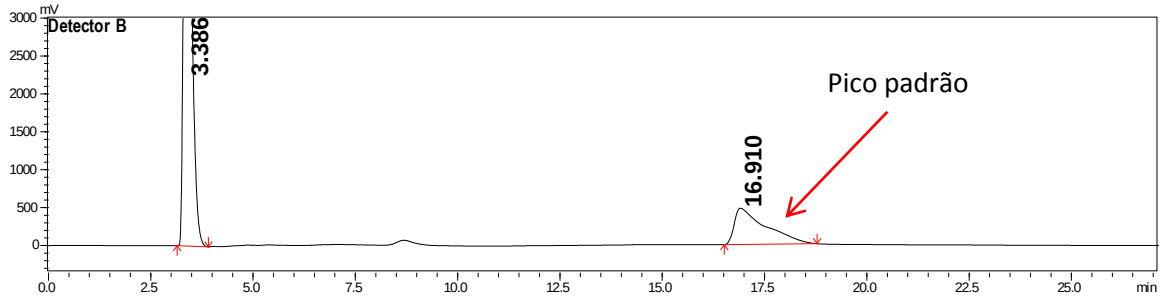
Fonte: Autora

Figura 31 - Cromatograma de referência obtido para a trioleína



Fonte: Autora

Figura 32 - Cromatograma de referência obtido para a trilinoleína



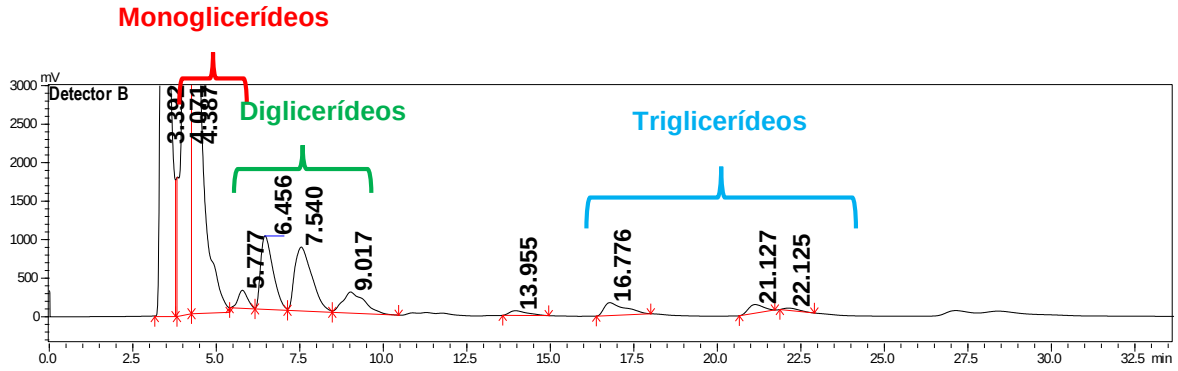
Fonte: Autora

Analisando-se os cromatogramas obtidos para os padrões escolhidos, verifica-se que o tempo de retenção para os monoglicerídeos são de 4 a 5 min (Figuras 27 e 28), para os diglicerídeos de 5 a 10 min (Figuras 29 e 30) e, após 10 min para os triglicerídeos (Figuras 31 e 32). Salienta-se também que o pico em 3,38, presente em todos os padrões, é referente ao solvente utilizado.

Após a caracterização dos reagentes, a escolha do solvente ideal e determinação da atividade enzimática, foram realizadas as reações de alcoólise variando-se a temperatura de reação, a relação óleo/glicerina, bem como, a concentração de enzima utilizada em cada reação conforme planejamento proposto no item 4.3.3.1.

Depois de finalizada a reação, todas as amostras foram caracterizadas via CLAE (Figura 33) sendo determinadas as porcentagens de monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos (Tabela 16) através do cálculo das áreas dos picos obtidos.

Figura 33 - Cromatograma obtido referente a alcoólise enzimática realizada em THF



Fonte: Autora

Tabela 16 - Valores de conversão em mono, di e triglicerídeos obtidos com a variação dos parâmetros de entrada (temperatura, relação óleo/glicerina e % de catalisador)

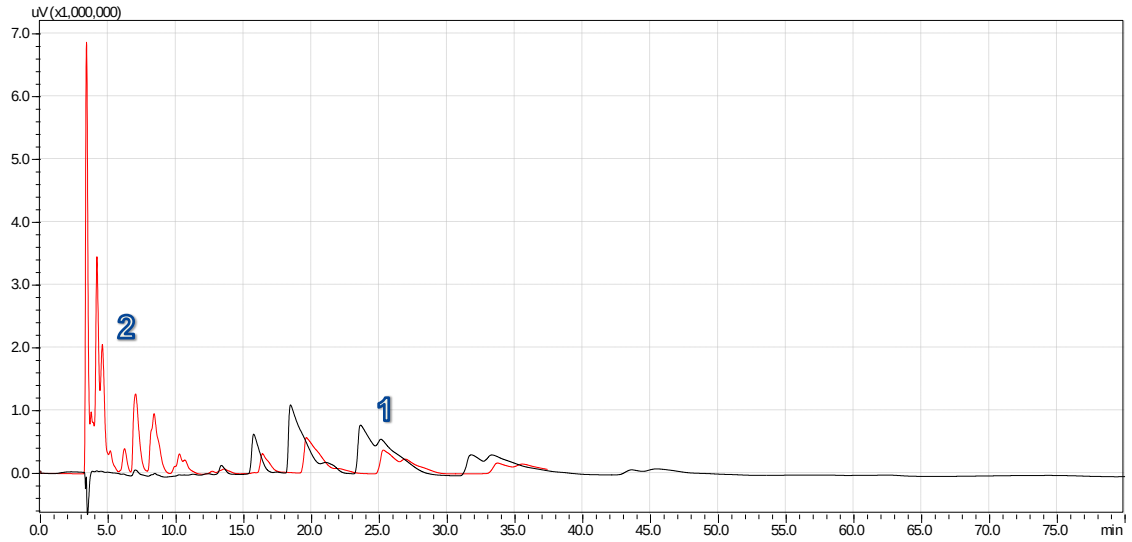
	Parâmetros a serem controlados (Variáveis independentes)			Valores obtidos através de cromatografia (Variáveis dependentes)		
Amostra	T (ºC)	relação óleo/glicerina	Catalisador (%)	monoglicerídeos (%)	diglicerídeos (%)	triglicerídeos (%)
óleo	0,0	0,00	0,00	3,590 ± 0,022	3,000 ± 0,056	93,410 ± 0,035
1	50,0	3,50	2,64	59,380 ± 5,752	36,850 ± 6,333	3,770 ± 0,581
2	50,0	5,18	6,00	68,470 ± 1,491	31,530 ± 1,491	0,000 ± 0,000
3	50,0	1,82	6,00	64,920 ± 2,345	33,350 ± 1,874	1,730 ± 0,470
4	50,0	3,50	6,00	63,260 ± 2,134	20,180 ± 1,352	16,560 ± 0,782
5	50,0	3,50	9,36	63,110 ± 1,756	28,690 ± 4,230	8,200 ± 2,474
6	50,0	3,50	6,00	51,830 ± 2,174	23,330 ± 3,772	24,840 ± 5,946
7	60,0	2,50	8,00	57,200 ± 8,719	38,910 ± 8,246	3,880 ± 0,473
8	60,0	4,50	8,00	68,120 ± 6,271	23,310 ± 6,834	8,570 ± 0,564
9	60,0	4,50	4,00	37,320 ± 4,306	29,990 ± 4,817	32,690 ± 0,510
10	60,0	2,50	4,00	43,580 ± 17,546	33,550 ± 11,947	22,870 ± 5,599
11	40,0	4,50	4,00	9,780 ± 0,388	5,350 ± 0,701	84,870 ± 1,089
12	40,0	2,50	4,00	17,440 ± 0,831	6,070 ± 0,030	76,490 ± 0,801
13	40,0	2,50	8,00	48,440 ± 4,579	19,790 ± 1,167	31,760 ± 5,747
14	40,0	4,50	8,00	25,650 ± 3,611	7,900 ± 0,526	66,450 ± 3,085
15	66,8	3,50	6,00	62,770 ± 3,008	21,840 ± 2,696	15,400 ± 0,312
16	33,2	3,50	6,00	9,000 ± 3,629	4,140 ± 1,381	86,860 ± 5,010

Fonte: Autora

Analisando-se os dados obtidos para monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos, referentes a cada uma das alcoólise realizadas, verifica-se, em alguns dos testes realizados em duplicata, significativa variação dos valores obtidos, e essa discrepância pode ser explicada pelo efeito da não homogeneidade de agitação do shaker e pelo efeito da destilação e possível degradação das moléculas, uma vez que

foram utilizadas mantas de aquecimento distintas com respectivos controle de temperatura não eficientes. Nota-se também na tabela 15, uma redução do teor de triglicerídeos e um aumento significativo do teor de monoglicerídeos, sendo possível verificar melhor a eficiência da reação através da análise comparativa dos cromatogramas referentes ao óleo de soja e a amostra de alcoólise (Figura 34), em que se observam picos mais acentuados de monoglicerídeo e diglicerídeo e picos menos acentuados de triglicerídeo, podendo-se afirmar, assim, que o processo de alcoólise possibilitou a conversão do óleo de soja nesses dois grandes grupos, conforme desejado, sendo observado um maior teor de monoglicerídeos.

Figura 34 - Comparação dos cromatogramas ilustrativos do óleo de soja e do produto da alcoólise: (---) óleo de soja (cromatograma 1); (---) produto da alcoólise (croatograma 2)



Fonte: Autora

Outro ponto a ser destacado com relação à significativa variação entre algumas amostras em duplicata é o conhecido potencial de enzimas lipases na quebra de triglicerídeos, porém sem uma rota preferencial, pode-se obter tanto monoglicerídeos quanto diglicerídeos como produto final. Os valores da tabela 16 refletem o potencial da enzima na quebra do triglicerídeo, já que teores somados de monoglicerídeos e diglicerídeos reduzem significativamente a variação entre os valores de duplicata obtidas.

Tabela 17 – Porcentagens de monoglícerios e diglicerídeos somados em cada amostra submetida a alcoólise enzimática

Amostra	T (ºC)	relação óleo/glicerina	% catalisador	Média mono + Di
óleo	0,0	0,00	0,00	6,590 ± 0,035
1	50,0	3,50	2,64	96,230 ± 0,581
2	50,0	5,18	6,00	100,000 ± 0,000
3	50,0	1,82	6,00	98,270 ± 0,470
4	50,0	3,50	6,00	83,440 ± 0,782
5	50,0	3,50	9,36	91,800 ± 2,474
6	50,0	3,50	6,00	75,160 ± 5,946
7	60,0	2,50	8,00	96,120 ± 0,473
8	60,0	4,50	8,00	91,430 ± 0,564
9	60,0	4,50	4,00	67,310 ± 0,511
10	60,0	2,50	4,00	77,130 ± 5,599
11	40,0	4,50	4,00	15,130 ± 1,089
12	40,0	2,50	4,00	23,510 ± 0,801
13	40,0	2,50	8,00	68,240 ± 5,747
14	40,0	4,50	8,00	33,550 ± 3,085
15	66,8	3,50	6,00	84,600 ± 0,312
16	33,2	3,50	6,00	13,140 ± 5,010

Fonte: Autora

Após análise dos resultados obtidos, a fim de se determinar a melhor condição de reação e a influência de cada variável de entrada no processo, foram analisados os dados obtidos descritos na Tabela 16 utilizando-se o Programa Statistica 12.0, conforme descrito nos itens 4.3.3.1.

Dessa forma, inicialmente foram verificados os efeitos principais, suas interações e o erro padrão em função das concentrações de monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos, em porcentagem, levando-se em conta as variáveis independentes escolhidas (Temperatura, relação óleo/glicerina e concentração de catalisador). Os dados obtidos podem ser verificados nas Tabela 18, 19 e 20, onde os termos lineares estão representados por L e os quadráticos por Q.

Assim, analisando-se os resultados e, considerando-se o valor de p igual a 0,05 com um nível de confiança de 95 %, foi possível a análise dos fatores que mais influenciaram no processo, temperatura, relação óleo/glicerina ou porcentagem de catalisador, e as interações entre eles.

Tabela 18 - Estimativa de cada efeito para os monoglicerídeos

Fatores	$R^2 = 0,7472$					
	Coeficientes	**Erro padrão**	**t_{cal}*(3)**	**Valor p***	**-95,% (Lim. Conf.)**	**+95,% (Lim. Conf.)**
Média	59,089	6,243	9,465	0,000	46,142	72,036
Efeitos principais						
T (ºC) (L)	28,605	4,792	5,969	0,000	18,667	38,544
T (ºC) (Q)	-22,768	5,818	-3,913	0,001	-34,835	-10,701
Óleo/glic (L)	-2,903	4,792	-0,606	0,551	-12,841	7,036
Óleo/glic (Q)	-0,979	5,818	-0,168	0,868	-13,046	11,088
% Cat (L)	14,286	4,792	2,981	0,007	4,348	24,225
% Cat (Q)	-4,833	5,818	-0,831	0,415	-16,900	7,234
Interações						
T (ºC) (L) x Óleo/glic (L)	8,780	6,261	1,402	0,175	-4,205	21,766
T (ºC) (L) x % Cat (L)	-0,611	6,261	-0,098	0,923	-13,597	12,374
Óleo/glic (L) x % Cat (L)	0,509	6,261	0,081	0,936	-12,476	13,495

* t_{cal} = valor de influência no processo (estatística do teste);

*p = probabilidade de significância do teste t, a 3 graus de liberdade

Fonte: Autora

Assim, analisando-se os efeitos relacionados à produção de monoglicerídeos, verifica-se que a temperatura (termos linear e quadrático) e a porcentagem de catalisador (termo linear) foram as variáveis que mais influenciaram na obtenção dos mesmos, pois estão com valores de **p** menores que 0,05.

Esse fato pode ser justificado pela possível inativação da enzima com o aumento da temperatura, devido à desnaturação bem como pelo aumento da probabilidade de ocorrência de um maior número de quebras na mesma molécula pelo aumento da concentração do catalisador.

Tabela 19 - Estimativa de cada efeito para os diglicerídeos

Fatores	R^2 = 0,7742					
	Coeficientes	**Erro padrão**	**t_{cal}*(3)**	**Valor p***	**-95,% (Lim. Conf.)**	**+95,% (Lim. Conf.)**
Média	22,307	3,353	6,652	0,000	15,352	29,262
Efeitos principais						
T (ºC) (L)	17,049	2,574	6,623	0,000	11,710	22,387
T (ºC) (Q)	-8,863	3,125	-2,836	0,010	-15,345	-2,381
Óleo/glic (L)	-5,104	2,574	-1,983	0,060	-10,442	0,235
Óleo/glic (Q)	4,891	3,125	1,565	0,132	-1,591	11,373
% Cat (L)	0,183	2,574	0,071	0,944	-5,156	5,521
% Cat (Q)	5,124	3,125	1,639	0,115	-1,358	11,606
Interações						
T (ºC) (L) x Óleo/glic (L)	-1,637	3,363	-0,487	0,631	-8,612	5,338
T (ºC) (L) x % Cat (L)	-4,399	3,363	-1,308	0,204	-11,374	2,576
Óleo/glic (L) x % Cat (L)	-5,801	3,363	-1,725	0,099	-12,777	1,174

* t_{cal} = valor de influência no processo (estatística do teste);

*p = probabilidade de significância do teste t, a 3 graus de liberdade

Fonte: Autora

Com relação à conversão em diglicerídeos, somente os termos linear e quadrático referentes à temperatura influenciaram no processo. Essa diferença observada com relação à produção de monoglicerídeos pode ser explicada pela desnaturação da enzima, como no caso da produção dos monoglicerídeos mais, possibilidade de ocorrência de pelo menos uma quebra durante a reação de alcoólise independente da concentração da enzima.

Já com relação à produção de triglicerídeos, mais uma vez os termos linear e quadrático referentes à temperatura influenciaram no processo, bem como a concentração da enzima, uma vez que, ocorrendo desnaturação da enzima, aumenta a inatividade da mesma e, com isso, diminuição do rendimento da reação. Com relação à concentração da enzima, quanto menor a concentração da mesma, maior a probabilidade de preservação dos triglicerídeos.

Tabela 20 - Estimativa de cada efeito para os triglicerídeos

Fatores	R^2 = 0,8141					
	Coeficientes	**Erro padrão**	**t_{cal}*(3)**	**Valor p***	**-95,% (Lim. Conf.)**	**+95,% (Lim. Conf.)**
Média	18,604	7,747	2,401	0,025	2,538	34,670
Efeitos principais						
T (ºC) (L)	-45,654	5,947	-7,677	0,000	-57,987	-33,321
T (ºC) (Q)	31,631	7,220	4,381	0,000	16,657	46,605
Óleo/glic (L)	8,007	5,947	1,346	0,192	-4,326	20,339
Óleo/glic (Q)	-3,912	7,220	-0,542	0,593	-18,886	11,061
% Cat (L)	-14,469	5,947	-2,433	0,024	-26,801	-2,136
% Cat (Q)	-0,291	7,220	-0,040	0,968	-15,264	14,683
Interações						
T (ºC) (L) x Óleo/glic (L)	-7,143	7,770	-0,919	0,368	-23,256	8,971
T (ºC) (L) x % Cat (L)	5,010	7,770	0,645	0,526	-11,103	21,123
Óleo/glic (L) x % Cat (L)	5,292	7,770	0,681	0,503	-10,822	21,405

* t_{cal} = valor de influência no processo (estatística do teste);

*p = probabilidade de significância do teste t, a 3 graus de liberdade

Fonte: Autora

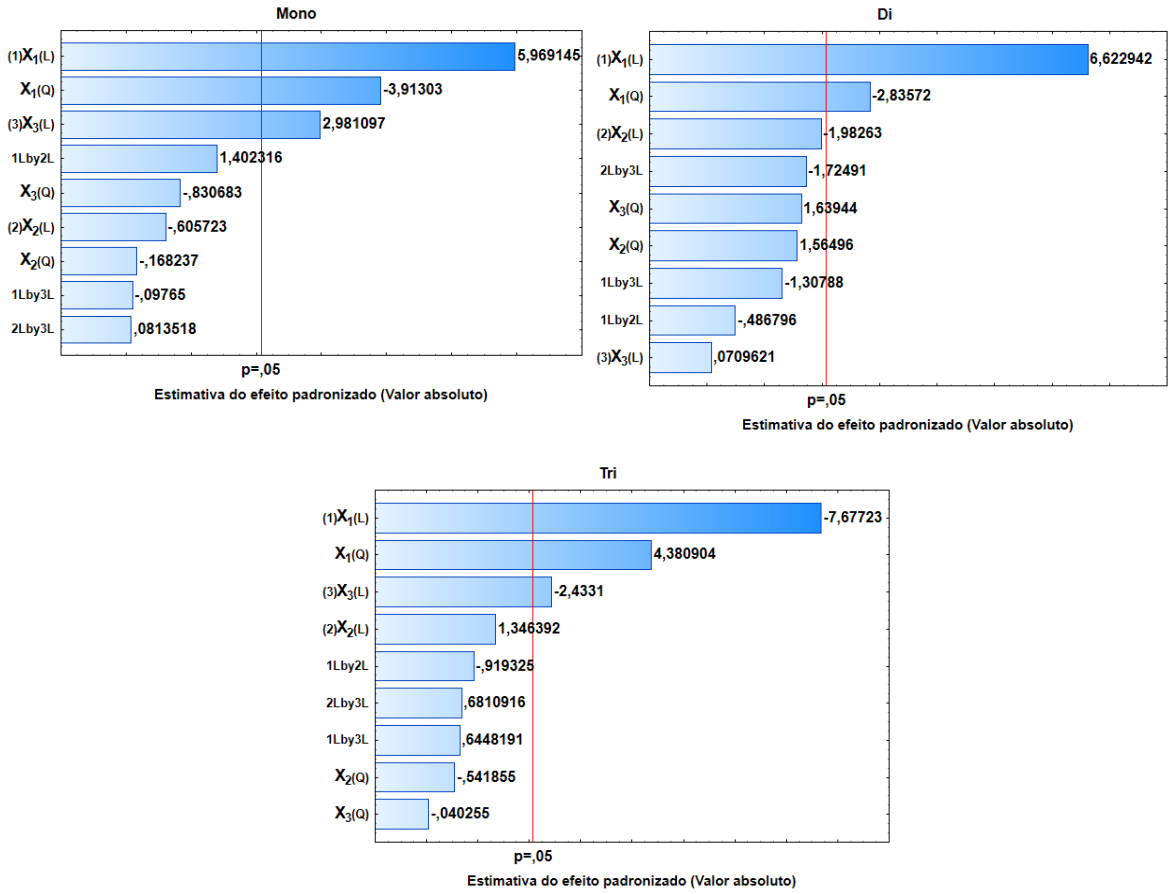
De forma mais didática, estes dados também podem ser analisados através da análise dos Diagramas de Pareto, onde os efeitos padronizados são determinados para cada variável de entrada estudada (temperatura, relação óleo/glicerina ou porcentagem de catalisador) sendo a interação entre essas variáveis determinada pela Equação 7.

$$\mathbf{t_{cal}} = \frac{\boldsymbol{\theta}\hat{}}{\mathbf{EP}(\boldsymbol{\theta}\hat{})} \qquad \text{Equação 7}$$

Onde: θˆ representa o valor do efeito e EP (θˆ) o erro padrão para cada efeito

Neste caso, também deve ser considerado um nível de confiança de 95 %, que pode ser verificado pela linha vermelha observada na Figura 35 em cada diagrama. Neste caso, as barras que ultrapassam a linha representam as variáveis que mais influenciaram no aumento ou na diminuição de cada variável de saída no processo.

Figura 35 - Diagrama de Pareto mostrando as variáveis que mais influenciam na produção de monoglicerídeos (A), diglicerídeos (B) e triglicerídeos (C)



Sendo X1 = T (ºC), X2 = Óleo/glicerina e X3 = % Catalisador
Fonte: Autora

Através destes diagramas, pode-se verificar que as variáveis que mais influenciaram no processo para o caso da formação de monoglicerídeos foram a temperatura e a concentração de enzima (Figura 35A), conforme observado anteriormente através da análise da estimativa de cada efeito. Essa análise confirma a hipótese de possível inatividade da enzima devido à desnaturação ao elevar-se muito a temperatura e necessidade de maiores concentrações enzimática para maiores números de quebras na estrutura dos triglicerídeos e, assim, obtenção de maior concentração de monoglicerídeos.

Já, com relação à formação de diglicerídeos, a temperatura se confirmou como a variável que mais influenciou no processo, como verificado durante a análise da formação dos monoglicerídeos, porém, nesse caso, a concentração do catalisador não causou uma influência tão significativa, já que menores concentrações realizam menor número quebras, possibilitando a formação dos diglicerídeos, como citado anteriormente (Figura 35B).

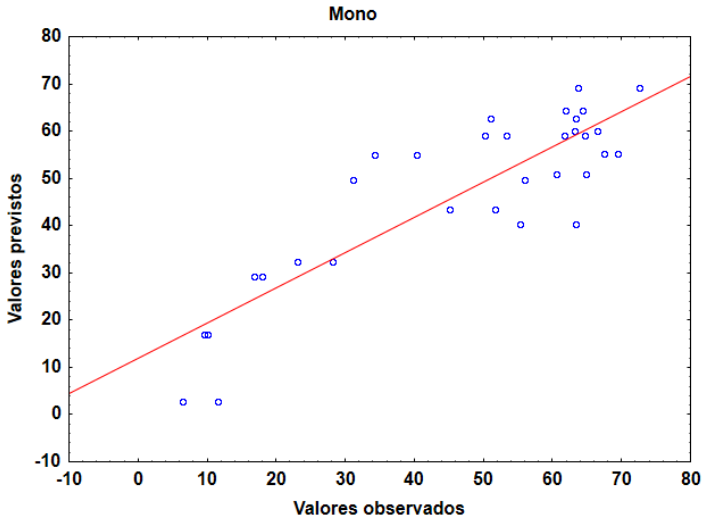
Já, com relação aos triglicerídeos (Figura 35C), a concentração foi afetada pela temperatura que, no caso, deve ser elevada, visando a desnaturação da enzima e, assim, a minimização da formação de monoglicerídeos e diglicerídeos, e a concentração de enzima também deve ser baixa, evitando a ocorrência de reação.

Através da análise das Figuras 36, 37 e 38, onde são verificadas as distribuições dos resíduos, é possível determinar que os pontos se encontram muito próximos a reta e, dessa forma, pode-se concluir que o modelo utilizado apresenta um bom ajuste e que os dados obtidos apresentam boa confiabilidade, confirmada pela boa distribuição dos resíduos.

Esse bom ajuste pode ser confirmado através da determinação do coeficiente de regressão (R^2), em que é possível observar valores relativamente altos para processos enzimáticos, em que muitos fatores podem influenciar na reação, e confirmam os outros resultados observados.

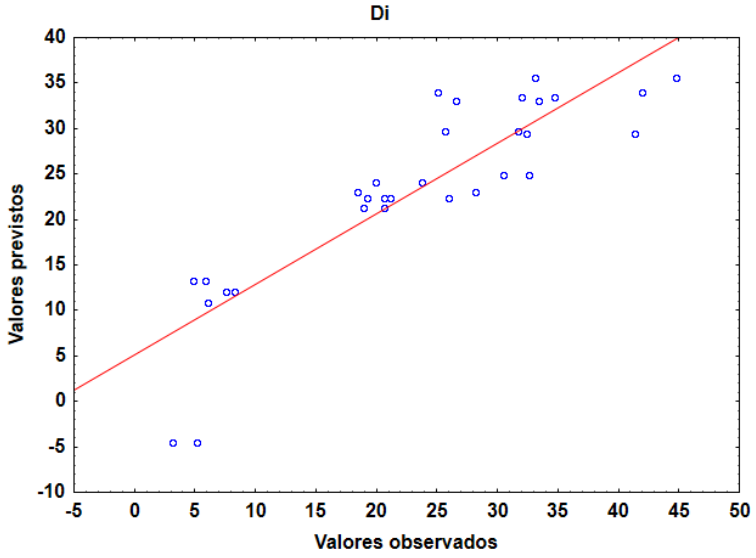
Assim, levando-se em conta todas as análises realizadas, o teor de monoglicerídeos e diglicerídeos obtidos neste modelo apresentaram valores de 0,7472 (74,72%) e 0,7742 (77,42%), respectivamente. Já o teor de triglicerídeos obteve valor de 0,8141 (81,41 %). Esses dados mostram que a maior parte dos resultados (acima de 70 %) são explicados pelo modelo escolhido.

Figura 36 - Ajuste do modelo para monoglicerídeos



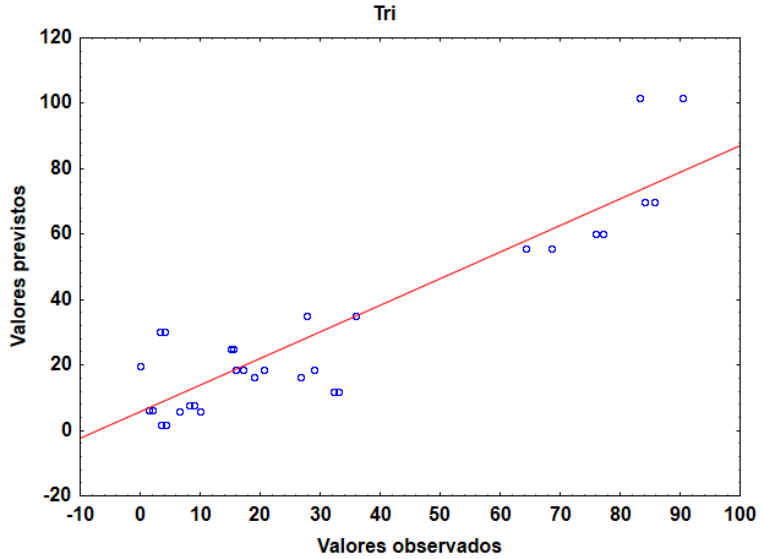
Fonte: Autora

Figura 37 - Ajuste do modelo para diglicerídeos



Fonte: Autora

Figura 38 - Ajuste do modelo para triglicerídeos



Fonte: Autora

Analisando-se os resultados, verifica-se que o modelo apresentou um bom ajuste, uma vez que, a maioria dos pontos encontra-se próximos aos valores desejados, representados pela reta, principalmente no caso dos diglicerídeos e triglicerídeos. Verificou-se também, um maior erro no ajuste do modelo escolhido no caso dos monoglicerídeos.

Salienta-se também que outros modelos foram testados, sendo obtidos resultados com menor significância durante a realização das análises estatísticas.

Na Tabela 21, é possível a verificação dos coeficientes de regressão obtidos durante a etapa de realização da alcoólise e análise da formação dos acilglicerídeos, demonstrando quais das variáveis estudadas (temperatura, relação óleo/glicerina ou porcentagem de catalisador) afetam mais na mudança do teor de monoglicerídeos, diglicerídeos e triglicerídeos. Assim, foram obtidas as funções que descrevem a variação de cada parâmetro de saída, sendo que os coeficientes negativos explicam a redução do teor de cada acilglicerídeo obtido.

Tabela 21 - Equações da curva para os monoglicerídeos e diglicerídeos

Equação Polinomial: $a_0 + a_1X_1 + a_2X_2 + a_3X_3 + a_4X_1X_2 + a_5X_1X_3 + a_6X_2X_3 + a_7X_1^2 + a_8X_2^2 + a_9X_3^2$

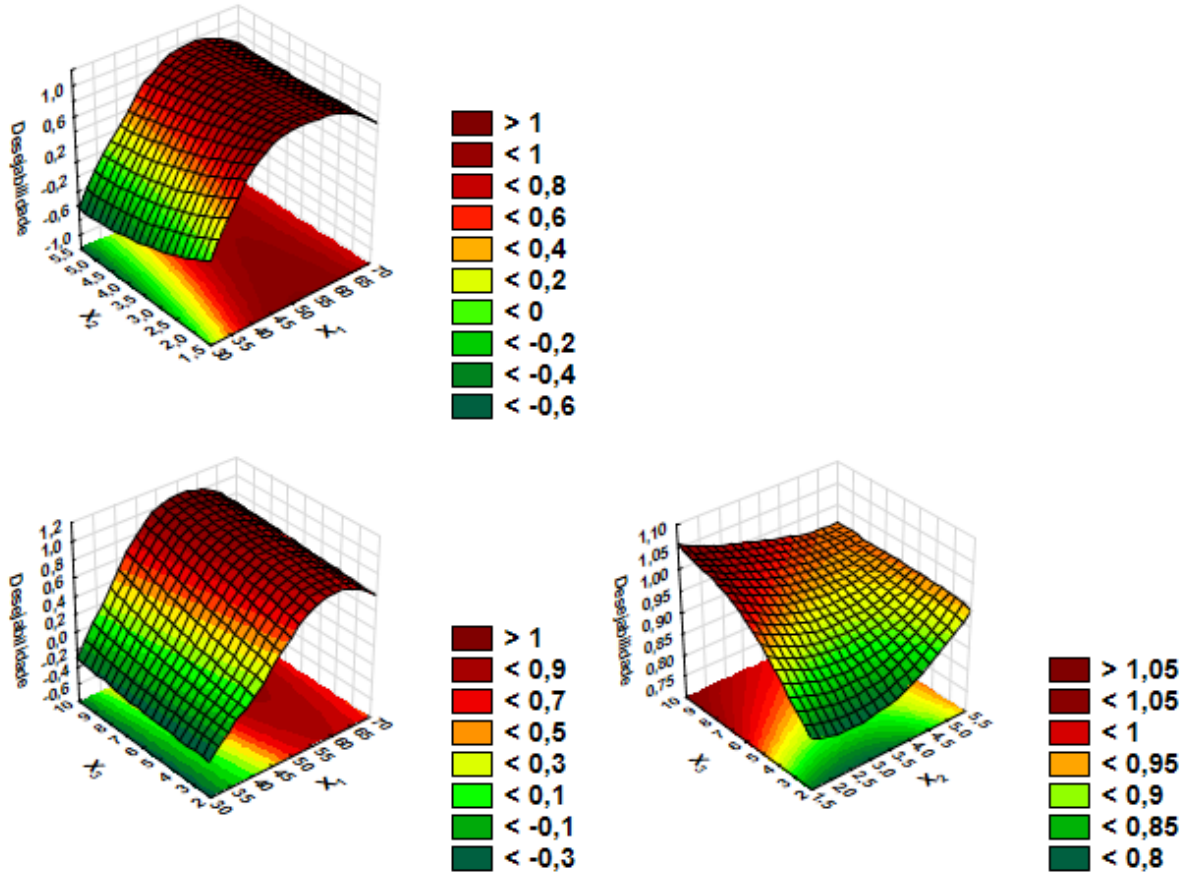
		Parâmetros lineares							Parâmetros Quadráticos		
	R^2	a_0	a_1	a_2	a_3	a_4	a_5	a_6	a_7	a_8	a_9
Mono	0,7472	-266,200	11,369	-20,740	11,140	O,439	-0,015	0,127	-0,114	-0,489	-0,604
Di	0,7742	-147,202	6,230	-6,876	2,935	0,082	-0,110	-1,450	-0,044	2,446	0,640
Tri	0,8141	513,402	-17,600	27,616	-14,074	-0,357	0,125	1,323	0,158	-1,956	-0,036

*onde: X_1 = temperatura, X_2 = relação óleo glicerina e X_3 = Concentração de enzima

Fonte: Autora

Com relação a análise das superfícies de resposta e curvas de contorno, a análise das mesmas possibilita a verificação das condições que favorecem o aumento da concentração de monoglicerídeos e diglicerídeos e minimizam o teor de triglicerídeos (Figura 39 e 40), sendo verificado que, temperaturas muito baixas ou muito elevadas desfavorecem a formação de mono e diglicerídeos. Com relação à concentração do catalisador (enzima), quanto maior a concentração, mais favorecida a alcoólise, sendo que a relação óleo/glicerina não proporcionou uma influência significativa no processo.

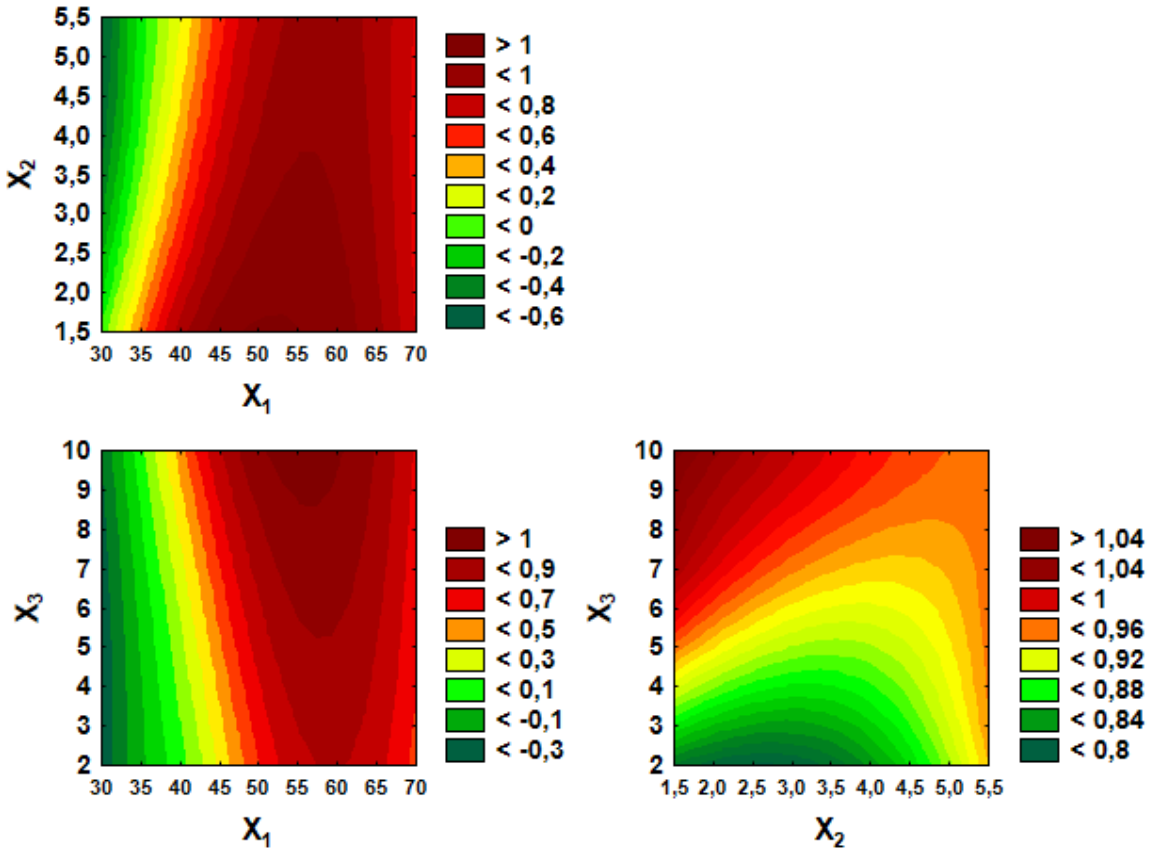
Figura 39 – Superfícies de resposta obtidas em função da variação da temperatura, da relação óleo/glicerina e da porcentagem de catalisador para maximização dos teores de mono e diglicerídeos e redução do teor de triglicerídeos utilizando-se a função de desejabilidade



Sendo X1 = T (ºC), X2 = Óleo/glicerina e X3 = % Catalisador

Fonte: Autora

Figura 40 - Superfícies de contorno obtidas em função da variação da temperatura, da relação óleo/glicerina e da porcentagem de catalisador para maximização dos teores de mono e diglicerídeos e redução do teor de triglicerídeos utilizando-se a função de desejabilidade

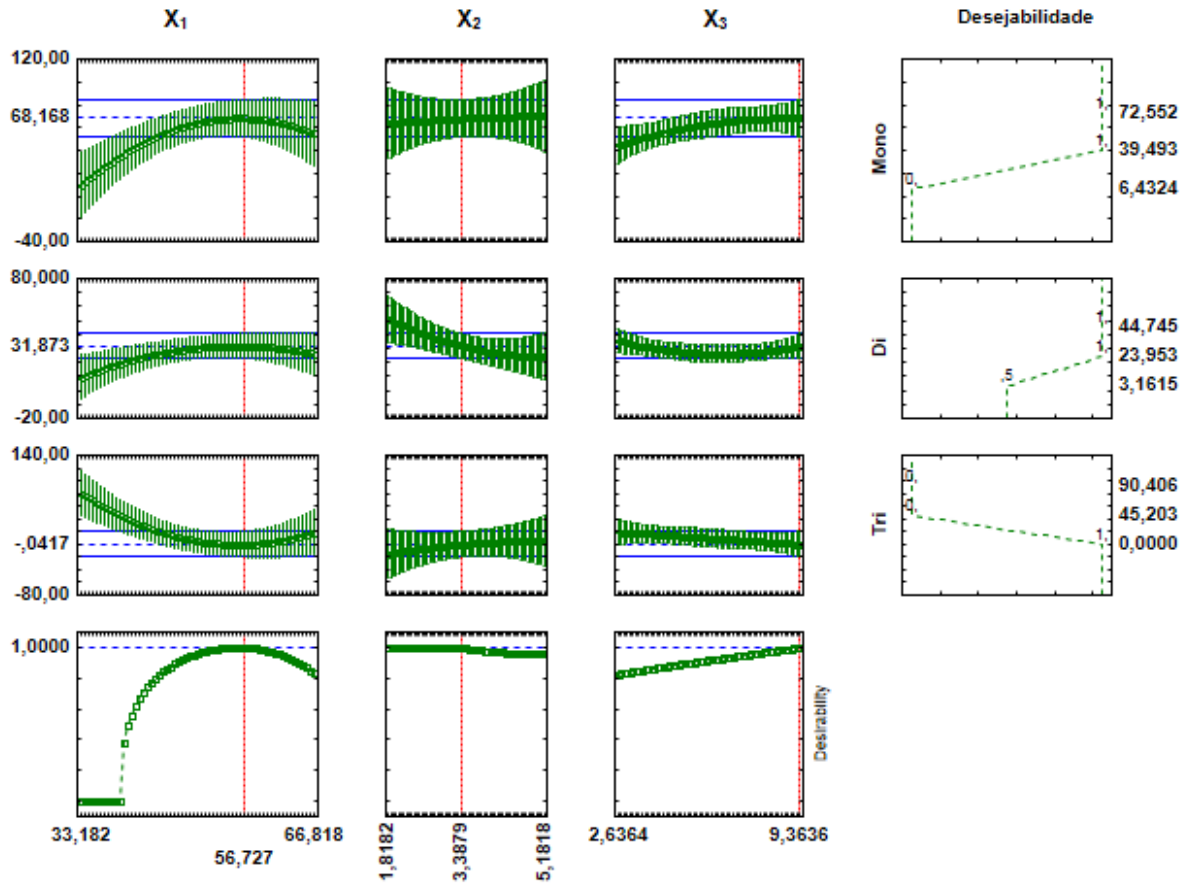


X1 = T (ºC), X2 = Óleo/glicerina e X3 = % Catalisador.

Fonte: Autora

Além da análise dos dados e verificação da influência de cada parâmetro, foi determinada a condição que possibilitasse a obtenção de maior quantidade de monoacilglicerídeos e diglicerídeos utilizando-se a função de desejabilidade. Analisando-se os dados, verifica-se que a temperatura ótima de reação foi de 56,7 ºC, a relação molar foi de 1:3,5 (m/m glicerina/óleo) e a porcentagem de catalisador de 9,36 %, sendo esses dados determinados com uma confiança acima de 95 %, conforme evidenciado no gráfico representado na Figura 41.

Figura 41 - Determinação das condições ótimas reacionais utilizando-se a função de desejabilidade



Fonte: Autora

Sendo X1 = T (ºC), X2 = Óleo/glicerina e X3 = % Catalisador

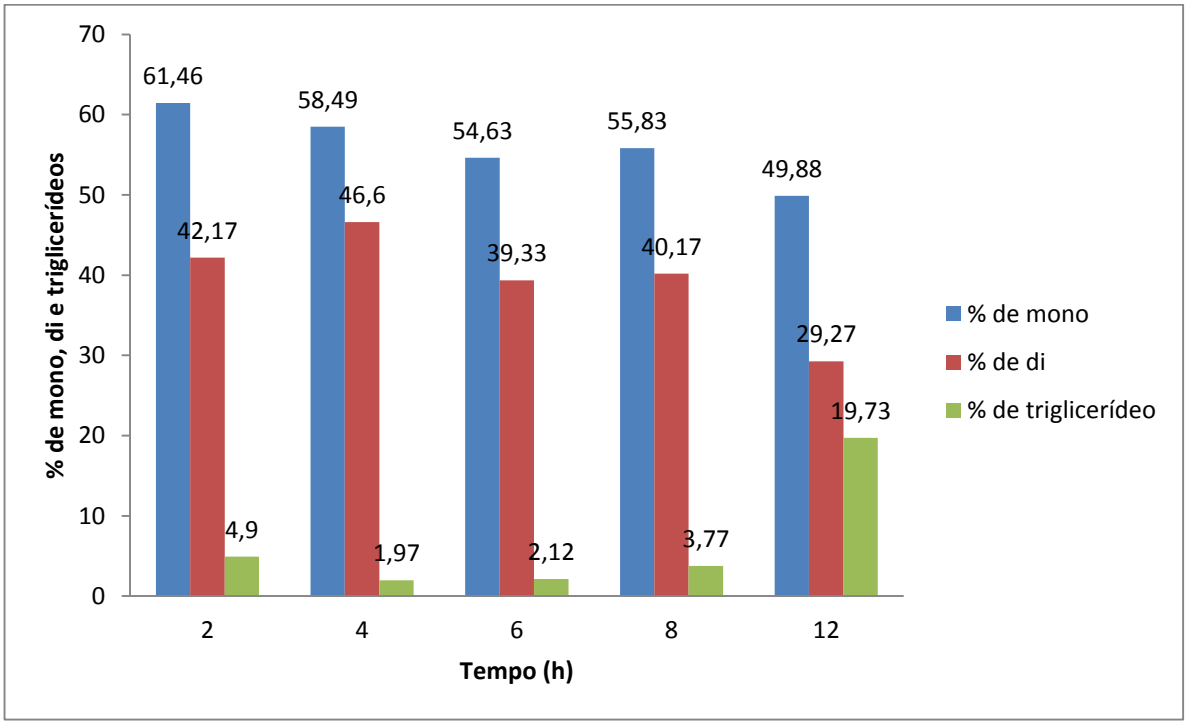
Além da análise da influência da temperatura, da relação óleo/glicerina e da concentração da enzima, também foram realizados estudos referentes ao tempo ótimo de reação, utilizando para os testes os valores dos parâmetros obtidos a partir da análise do gráfico referente a função de desejabilidade (Figura 42).

Através da análise do gráfico, pode-se afirmar que o tempo de 4 horas foi o tempo ideal para conversão e obtenção dos teores de monoacilgliceróis e diacilgliceróis necessários para obtenção de resina alquídica, já que os valores obtidos de monoacilgliceróis e diacilgliceróis apresentaram-se bastante próximos ao tempo de 2 horas, porém o teor de triacilgliceróis apresentaram-se mais baixos.

Também deve ser ressaltado que o gráfico apresentado apresenta valores de teores de mono, di e triacilglicerídeos maiores que 100% devido ao fato de estarem

somados os desvios e que o desvio padrão obtido durante as análises se deve ao fato da enzima ser um catalisador não específico para a formação de mono ou diglicerídeos, assim, normalmente são aceitáveis desvios acima de 1 %.

Figura 42 - Teor de glicerídeos obtidos na alcoólise em função do tempo de conversão



Fonte: Autora

5.4 CÁLCULO DE CUSTO/BENEFÍCIO DA CONDIÇÃO ÓTIMA DE ALCOÓLISE

Para efeito de comparação e estimativa de viabilidade, foram simulados, conforme Tabelas 22 a 25, os custos de matéria-prima das fórmulas empregadas (fórmula padrão utilizada na indústria e fórmula ajustada em laboratório com utilização de enzima) para a condição ótima encontrada e custos fixos (planejamento de matéria-prima, lead time no reator, custo com mão de obra do laboratório de controle de qualidade para realização das análises de aprovação da resina e custo com mão de obra operacional). Para cálculo dos custos fixos, foram utilizadas bases de cálculo utilizadas na indústria química, levando-se em conta reatores de 25 m^3 e salários usualmente pagos na indústria de tintas e vernizes.

Tabela 22 - Cálculo de custo da fórmula empregando catalisador químico

FÓRMULA PADRÃO EMPREGADA NA INDÚSTRIA COM UTILIZAÇÃO DE CATALISADOR QUÍMICO			
ITEM	**DESCRIÇÃO**	**CUSTO DA MATÉRIA PRIMA (R$/kg)**	**CUSTO DA FORMULAÇÃO (R$ x Composição na fórmula)**
1	ÓLEO DE SOJA	2,29	49,92
2	HIDROX. LITIO MONOHIDRATADO	121,54	1,22
3	GLICERINA	1,90	15,07
4	XILENO	3,39	3,86
5	ANIDRIDO FTALICO	3,30	55,19
6	AGUARRÁS MINERAL	2,56	134,01
	Custo da fórmula total (R$ / 100 kg de matéria prima)		2,60

Fonte: Autora

Tabela 23 - Cálculo de custo da fórmula empregando catalisador enzimático

FÓRMULA PADRÃO EMPREGADA NA INDÚSTRIA COM UTILIZAÇÃO DE CATALISADOR QUÍMICO			
ITEM	**DESCRIÇÃO**	**CUSTO DA MATÉRIA PRIMA (R$/kg)**	**CUSTO DA FORMULAÇÃO (R$ x Composição na fórmula)**
1	ÓLEO DE SOJA	2,29	77,91
2	GLICERINA	1,90	13,45
3	TETRAHIDROFURANO	12,53	134,36
4	LIPOZYME 435	7862,50	10111,18
5	GLICERINA	1,90	5,02
6	XILENO	3,39	2,43
7	ANIDRIDO FTALICO	3,30	34,74
8	AGUARRÁS MINERAL	2,56	84,49
	Custo da fórmula total (R$ / 100 kg de matéria prima)		104,64

Fonte: Autora

Tabela 24 - Cálculo de custo fixo da fórmula empregando catalisador químico

FÓRMULA PADRÃO EMPREGADA NA INDÚSTRIA COM UTILIZAÇÃO DE CATALISADOR QUÍMICO (CUSTO FIXO)		
ITEM	**DESCRIÇÃO**	**PREÇO UNITÁRIO (R$/kg)**
1	PLANEJAMENTO DE MATÉRIA PRIMA	3,50
2	LEAD TIME DO REATOR	60,00
3	CUSTO LAB. CONTROLE DE QUALIDADE	3,80
4	CUSTO MÃO DE OBRA OPERACIONAL	13,00
	Custo da fórmula total (R$ para 100kg de resina)	80,30

Fonte: Autora

Tabela 25 - Cálculo de custo fixo da fórmula empregando catalisador enzimático

FÓRMULA PADRÃO EMPREGADA NA INDÚSTRIA COM UTILIZAÇÃO DE CATALISADOR ENZIMÁTICO (CUSTO FIXO)		
ITEM	**DESCRIÇÃO**	**PREÇO UNITÁRIO (R$/kg)**
1	PLANEJAMENTO DE MATÉRIA PRIMA	3,50
3	LEAD TIME DO REATOR	58,00
4	CUSTO LAB. CONTROLE DE QUALIDADE	3,80
5	CUSTO MÃO DE OBRA OPERACIONAL	13,00
	Custo da fórmula total (R$ para 100kg de resina)	78,30

Fonte: Autora

O resultado de custo obtido mostra que o processo proposto no trabalho por via enzimática resulta em menores tempos de processo e, consequentemente, menor custo fixo de produção. Porém, como o custo da enzima utilizada ainda não é economicamente viável e utilizada em grande escala, obteve-se alto custo variável de produção (custo da fórmula, avaliando-se e comparando-se apenas custos de matérias-primas), tornando o processo proposto economicamente inviável enquanto a enzima não for produzida em grande escala.

5.5 RECUPERAÇÃO DA ENZIMA

Após utilização da enzima para obtenção da melhor condição de alcoólise para conversão em resina alquídica, foram realizados testes visando a recuperação da enzima, com o objetivo de tornar o processo mais viável e com menor impacto ambiental, já que não seriam gerados “rejeitos” para descarte do catalisador e, sim, “subprodutos” que poderiam ser reutilizados e realimentados no processo, após simples lavagem dos mesmos, conforme metodologia descrita no item 4.3.2.

Desta forma, dois solventes de baixo custo foram empregados nesta etapa: tetrahidrofurano e acetona. Os resultados de atividade podem ser observados na Tabela 26.

Tabela 26 - Resultados de atividade obtidos após tratamento da enzima com solvente

Solvente de alcoólise	**Xilol**	**Xilol**	**t-butanol**	**t-butanol**
Tratamento com:	THF	Acetona	THF	Acetona
$V_{titulado}$ (mL KOH)	9,1	5,9	13,1	9,9
$V_{titulado}$ x c x 1000	4550	2950	6550	4950
t x $m_{amostra}$	200	200	200	200
Atividade (U/g)	22,75	14,75	32,75	24,75

$V_{titulado}$ = volume de KOH necessário para titulação da amostra (mL); c = concentração da solução de KOH empregada (g/mL); t = tempo empregado no teste (min); $m_{amostra}$ = massa da amostra (g).
Fonte: Autora

Analisando-se os resultados obtidos, pode-se verificar que o teste após utilização da enzima na alcoólise com xilol e com t-butanol, foram obtidos valores de atividade mais significativos no tratamento com THF. O valor de atividade obtida neste teste torna totalmente viável o processo de lavagem e reutilização da enzima no processo, sendo necessária a realização de outros testes para minimizar a perda de atividade.

Salienta-se também, que no caso do tratamento com THF após reação de alcoólise em presença de t-butanol, foi possível uma recuperação da atividade de 63,59 % e no caso do tratamento com acetona somente de 48,00 %, o que confirma a maoir eficiência do tratamento com o THF.

5.6 OBTENÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DA RESINA

A alcoólise ótima obtida com os parâmetros acima estabelecidos (56,7 ºC, a relação molar de 1:3,5 m/m glicerina/óleo e a porcentagem de catalisador de 9,36 %) foi submetida à etapa de filtração para separação e recuperação da enzima, de destilação para separação do solvente THF não presente na fórmula da resina final e etapa de esterificação, isto é, foi adicionado solvente da fórmula e anidrido ftálico para controle de viscosidade e acidez desejáveis no processo e, após obtenção dos valores especificados, a resina final foi diluída.

Assim, foi obtida uma resina com viscosidades de processo e acidez conforme tabela 27, sendo que o primeiro resultado de viscosidade foi obtido com seis horas de processo de esterificação. A viscosidade final obtida foi de Y2 e teor de sólidos 44%. O avanço e os controles de processo foram realizados nos equipamentos de laboratório da BASF S.A. Todos os outros parâmetros controlados para a resina final ficaram dentro do especificado da resina produzida normalmente, e sua aplicação está sob sigilo industrial.

Tabela 27 - Resultados de viscosidade e acidez obtidos durante o avanço da resina

Tempo de esterificação (h)	Viscosidade de processo (Gardner)	Acidez
6	**N-O**	29,7
7	**S-**	22,8
8	**U+**	19,3
9	**V+**	17,4
10	**X+**	15,2
11	**Y-**	13,8
12	**Y-Z**	13,1
13	**Z**	12,6
13,5	**Z2**	12,1

Fonte: Autora

É importante ressaltar que, durante a esterificação de uma resina alquídica, os valores de viscosidade obtidos servem apenas como referência, sendo a variável principal de controle no desenvolvimento o índice de acidez. Assim, o controle do avanço é efetuado até a obtenção da acidez menor ou igual a especificada (IA <=12). O valor de viscosidade final obtida é de suma importância para o formulador da tinta final, já que juntamente com o teor de sólidos da resina, definirá a quantidade de solvente que o mesmo poderá utilizar na formulação para obtenção das características desejadas durante o processo e etapas finais de produção dos vernizes.

6 CONCLUSÕES

As reações de esterificação enzimática em meio heterogêneo com Novozym 435 foram efetivas na obtenção de resinas alquídicas, apresentando o mesmo desempenho obtido no processo utilizado atualmente pela indústria via catálise química.

Nas reações de alcoólise enzimática do óleo de soja, os teores de monoglicerídeos e diglicerídeos obtidos, comparando-se com alcoólise química, apresentaram valores bastante próximos e tempos semelhantes, tornando o processo possível de ser realizado via enzima.

A melhor conversão em monogliceróis e digliceróis obtida apresentou as seguintes variáveis de processo: temperatura de 56,73 ºC, relação molar de 1:3,5 (m/m glicerina/óleo), porcentagem de catalisador de 9,36 % e tempo de 4 horas.

A utilização de catalisador enzimático apresenta benefícios apoiados no pilar da sustentabilidade, já que foi verificado também neste trabalho, que é perfeitamente possível a recuperação da enzima para reaproveitamento no processo de produção.

Apesar de ter sido obtido custo de fabricação via processo enzimático menos vantajoso comparado ao processo via catalisador químico, verificou-se a não viabilidade econômica atualmente do processo devido ao alto custo relacionado a enzima.

A resina final apresentou resultados de índice de acidez e viscosidade semelhantes comparando-se os dois processos (empregado atualmente na indústria e enzimático), ou seja, as propriedades finais de interesse da resina não foram afetadas.

Estudos mais aprofundados referentes a recuperação da enzima e atividade enzimática após a recuperação da mesma possibilitariam a redução do custo do processo e, assim, aumento da viabilidade de aplicação industrial de catalisadores enzimáticos.

Também deve ser salientada a possibilidade de realização de estudos referentes a novas fontes de obtenção das lipases e verificação da atividade das mesmas na produção de resinas alquídicas, fator esse que também auxiliaria na redução do custo do principal responsável pelos gastos do processo.

REFERÊNCIAS

ABRAFATI. Coordenação de António Carlos M. Lacerda. Desenvolvido por Associação Brasileira dos Fabricantes de Tintas, 1985-2016. Apresenta indicadores do mercado. Disponível em: <http://www.abrafati.com.br/indicadores-do-mercado/numeros-do-setor/>. Acesso em: 15 out. 2015.

AGUIA QUIMICA. Coordenação de Paulo António Donadio. Desenvolvido por Águia Quimica S.A, 2011-2016. Apresenta manual básico sobre tintas. Disponível em: <www.aguiaquimica.com>. Acesso em: 5 out. 2015.

ASSANVO, E. et al. Synthesis, characterization, and performance characteristics of alkyd resins based on *Ricinodendron heudelotii* oil and their blending with epoxy resins. **Industrial Crops and Products**, Londres, v. 65, p. 293–302, mar. 2015.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12554**: **tintas para edificações não industriais — terminologia**. Rio de Janeiro, set. 2013.

BARRIOS, S. B. **Síntese de Resinas Alquídicas via Catálise Enzimática**. 2008. 162 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Instituto de Química, Rio Grande do Sul, 2008.

BASRI, Mahiran et al. Enzymatic synthesis of fatty esters by hydrophobic lipase derivatives immobilized on organic polymer beds. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Viscosin, v. 72, p. 407-411, 1995.

BELDER, E.G.; LEGG, J.C.; LINDE, R.V. **Aqueous air-drying alkyd dispersions and their use**. Int C^{09} D167/08. DE2861047. 12 jun. 1978, 26 nov. 1981. Unilever, Reino Unido.

BERTO, Daniela et al. Tin free antifouling paints as potential contamination source of metals in sediments and gastropods of the southern Venice lagoon. **Continental Shelf Research**, Londres, v. 45, p. 34–41, aug. 2012.

BETTENCOURT, Ana et al. Biodegradation of acrylic based resins: a review. **Dental Materials**, Londres, v. 26, p. 171–180, jan. 2010.

BISATTO, R. **Poliésteres via Catálise Enzimática Heterogênea**. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Instituto de Química, Rio Grande do Sul, set. 2012.

BON, E.P.S.; FERRARA, M.A.; CORVO, M.L. **Enzimas em biotecnologia**: produção, aplicação e mercado. 1. ed. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 2008.

BORNSCHEUER, U. T.; KAZLAUSKAS, R. J. **Hydrolases in organic synthesis.** 2. ed. Alemanha: Wiley, 2006.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. **Planejamento de Experimentos usando o Statistica**. 1. ed. Rio de Janeiro: E-papers: 2003.

CAMPESTRE. Desenvolvido por Campestre Ind. e Com. de Óleos Vegetais LTDA, 1974-2016. Apresenta especificações técnicas do óleo de soja. Disponível em: <http://www.campestre.com.br/especificacao_soja.shtml>. Acesso em: 10 jan. 2016.

CRESCENZO, Marta et al. The use of waterborne paints in contemporary murals: comparing the stability of vinyl, acrylic and styrene-acrylic formulations to outdoor weathering conditions. **Polymer Degradation and Stability**, Londres, v. 107, p. 285-293, 2014.

CUSTÓDIO, T.N., MORAIS, A.R. DE; MUNIZ, J.A. Superfície de resposta em experimento com parcelas subdivididas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 24, n.4, p. 1008-1023, dez. 2000.

DIXON, M.; WEBB, E. C. **Enzymes**. 2. ed. London: Longmans, 1964.

FAZENDA, J.M.R. **Tintas e Vernizes**: ciência e tecnologia. 1. ed. São Paulo: Edgard Blücher, 2005.

FERSHT, A. **Structure and mechanism in protein science**: a guide to enzymes catalysis and protein folding. 1. ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2000.

FIESP. Tintas e Vernizes. **Guia técnico ambiental tintas e vernizes**, São Paulo, v.1, p. 1-70, ed. 1, 2006. Disponível em <www.crq4.org.br>. Acesso em 5 out. 2015.

FONSECA, Ana et al. Synthesis of unsaturated polyesters based on renewable monomers: structure/properties relationship and crosslinking with 2-hydroxyethyl methacrylate. **Reactive and Functional Polymers**, Londres, v. 97, p. 1–11, 2015.

GÜNER, F.S.; YAGCI, Y.; ERCIYES, A.T. Polymers from Triglyceride Oils. **Progress in Polymer Science**, Londres, v.31, p. 633-670, 2006.

GUPTA, S.; SAMUEL, K.S.; BELGAONKAR, V.H. Alcoholysis of Vegetable Oils and Cottonseed oil. **Paintindia**, Japan, v. 43, p. 17-20, 1993.

HAALAND, P.D. **Experimental design in biotechnology**. 3. ed. New York: Marcel Dekker, 1989.

HARE, C.H. **Protective coatings**: fundamentals of chemistry and composition. 1. ed. Pittsburgh: Technology Publishing Company, 1994.

HARTMANN, D. **Resinas alquídicas base água emulsionadas por inversão de fase**. 2011. 104 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Sul: Instituto de Química, Rio Grande do Sul, out. 2011.

HATTI-KAUL, R.; MATTIASSON, B. **Isolation and purification of protein**. 1. ed. Boca Raton, London, New York: CRC Press, 2003.

HELDMANN, C. et al. Influence of nonionic emulsifiers on the properties of vinyl acetate/VeoVa10 and vinyl acetate/ethylene emulsions and paints. **Progress in Organic Coatings**, London, v. 35, p. 69–77, 1999.

ILLANES, A. **Enzyme biocatalysis**: principles and applications. 1. ed. Chile: Springer, 2008.

INTERNATIONAL UNION OF BIOCHEMISTRY AND MOLECULAR BIOLOGY. **Enzyme database**. Disponível em: <http://iubmb.org/biochemical-nomenclature/>. Acesso em 10 nov. 2015.

JIN, F.L.; LI, X.; PARK, S.J. Synthesis and application of epoxy resins: a review. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, Londres, v. 29, p. 1–11, 2015.

JOSÉ, C. et al. Investigation of the causes of deactivation and the degradation of the commercial biocatalyst Novozym 435 in ethanol aqueous media. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Londres, v. 71, p. 95-107, 2011.

KAMAL, H. et al. Nano ZnO/amine composites antimicrobial additives to acrylic paints. **Egyptian Journal of Petroleum**, Egypt, v. 24, p. 397-404, 2015.

KUMAR, A. et al. Versatile Route to polyol polyesters by lipase catalysis. **Macromolecules**, London, v. 36, p. 8219-8221, 2003.

LADISCH, M. et al. **Protein purification from molecular mechanisms to large-scale processes**.1. ed. Washington: American Chemical Society, 1990.

MALCATA, F. et al. Immobilized lipase reactors for modification of fats and oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Viscosin, v. 67, p. 890-910, 1990.

MARIZ, I. et al. High performance water-borne paints with high volume solids based on bimodal latexes. **Progress in Organic Coatings**, London, v. 68, p. 225–233, 2010.

MARTINEZ, M.; TORRANO, E.; ARACIL, J. An analogue of jojoba oil: a statistical approach. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, London, v. 27, p. 2179-2182, 1988.

MILETÍC, Nemanja et al. Surface modification of macroporous poly (glycidil methacrylate-co-ethylene glycol dimethacrylate) resins for improved Candida antarctica lipase B immobilization. **Reactive and Functional Polymers**, London, v. 69, n. 1, p. 68–75, jan. 2009.

MONTEIRO J.B.R., ROSADO E.L. Obesidade e a substituição de macronutrientes da dieta. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 14, n. 2, maio 2001.

MORAN, L.A. et al. **Bioquímica**. 5. ed. São Paulo: Pearson, 2013.

MORENO, C. et al. Eco-paints from bio-based fatty acid derivative latexes. **Progress in Organic Coatings**, London, v. 81, p. 101–106, 2015.

MYERS, R. H., MONTGOMERY, D. C. **Response surface methodology**: process and product optimization using designed experiments. New York: John Wiley & Sons, 1995.

NELSON, D.L.; COX, M.M. **Principles of biochemistry**. 4. ed. Wisconsin: W. H. Freeman, 2001.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I.S.; BRUNS, R.E. **Como fazer experimentos.** 3. ed. Campinas: Editora da Unicamp, 2007.

NOSAL, H. et al. Synthesis and characterization of alkyd resins based on Camelina sativa oil and polyglycerol. **Progress in organic coatings**, London, v. 86, p. 59–70, 2015.

NOVOZYMES. Developed by Novozymes Biopharma US Inc. **Shows enzymes for Biocatalysis: for smarter chemical synthesis**. Disponível em: <http://www.novozymes.com/en/solutions/biopharma/Brochures/Documents/2014-12576-01_Biocatalysis-Product-Sheet-Immobilised-Lipases-2.pdf>. Acesso em: 5 out. 2015.

PANDEY, A. et al. **Enzyme technology**. 1. ed., New Delhi: Springer: Asiatech Publishers Inc, 2010.

PANDEY, A. et al. The realm of microbial lipases in biotechnology. **Biotechnology and applied biochemistry**, London, v. 29, p. 119-131, 1999.

PATTON, T.C. **Alkyd resin technology**. New York: Interscience Publishers, 1962.

PERÁZIO, B. A. A. **Efeitos dos pontos axiais e centrais sobre a eficiência do delineamento composto central**. 2010. 68 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais, 2010.

PFLUCK, A. C. **Estudo computacional da influência da temperatura e do solvente sobre as propriedades conformacionais de Lipase de Pseudomonas cepacia.** 2009. TCC (Graduação em Bacharelado em Química Industrial) – Universidade Luterana do Brasil, Canoas, 2009

RÄMÄNEN, P.; MAUNU, S.L. Structure of tall oil fatty acid-based alkyd resins and alkyd–acrylic copolymers studied by NMR spectroscopy. **Progress in organic coatings**, London, v. 77, p. 361–368, 2014.

RICHETTI, A. **Esterificação enzimática de palmitato de 2-etilexila em sistema livre de solvente**. 2009. 101 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

RODRIGUES, M.I.; IEMMA, A.F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos:** uma estratégia sequencial de planejamentos. 1. ed. Campinas: Editora Casa do Pão, 2005.

ROSI, F. et al. Interpretation of mid and near-infrared reflection properties of synthetic polymer paints for the non-invasive assessment of binding media in twentieth-century pictorial artworks. **Microchemical Journal**, Perugia, v. 124, p. 898-908, 2015.

SILVA, F. et al. Development of a wet digestion method for paints for the determination of metals and metalloids using inductively coupled plasma optical emission spectrometry. **Talanta**, Ceará, v. 146, p. 188–194, abr. 2015.

SUAREZ, P.A.Z. et al. Transformação de triglicerídeos em combustíveis, materiais poliméricos e insumos químicos: algumas aplicações da catálise na Oleoquímica. **Química Nova**, São Paulo, v. 3. 2007.

TAHARA, S. **Planejamento de experimentos (DOE)**. 2010. Disponível em: <www.portaldeconhecimentos.org.br>. Acesso em: 27 jan. 2016.

THANAMONGKOLLIT, N. **Modification of tung oil for bio-based coating.** 2008. 93 p. Dissertation (Master of Science Degree) - University of Akron, Ohio, 2008.

UYAMA, H. Enzymatic polymerization. **Future directions in biocatalysis**, Osaka, v. 10, p. 205-251, 2007.

VALLEJO, P.P.; LÓPEZ, B.L.; MURILLO, E.A. Hyperbranched phenolic-alkyd resins with high solid content. **Progress in organic coatings**, London, v.87, p. 213–221, 2015.

VILA, A.; FERRER, N.; GARCÍA, J.F. Chemical composition of contemporary black printing inks based on infrared spectroscopy: basic information for the characterization and discrimination of artistic prints. **Analytica Chimica Acta**, Barcelona, v. 591, p. 97–105, 2007.

WEG. Desenvolvido por Weg S.A, 2008-2016. Apresenta conteúdo de treinamento sobre pintura industrial com tintas líquidas. Disponível em: <ecatolog.weg.net.> Acesso em: 5 out. 2015.

WHEELWRIGHT, S.M. **Protein purification**: design and scale up of downstream processing. 1. ed. New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapura: A Wiley-Interscience Publication, 1991.

WIDMANN, M.; JUHL, P. B.; Pleiss, J. Structural classification by the lipase engineering database: a case study of Candida antarctica lipase A. **BMC Genomics,** Stuttgart, v.11, p.123-131, 2010.

WOLFE, S.L. **Introduction to cell and molecular biology**. 1. ed. Davis: Wadsworth Publishing Company, 1995.

YANG, L.; ZHI-MIN, L. The research of temperature indicating paints and its application in aero-engine temperature measurement. **Procedia Engineering**, Xi, v. 99, p. 1152–1157, 2015.

YASUKAWA, T. et al. **Diacylglycerol oil**. 1 ed. Illinois: AOCS Publishing, 2004.

ZHU, L.; CHEUNG, C.S.; HUANG, Z. A comparison of particulate emission for rapeseed oil methyl ester, palm oil methyl ester and soybean oil methyl ester in perspective of their fatty ester composition. **Applied thermal engineering**, London, v. 94, p. 249–255, 2016.