

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
Instituto de Química

Departamento de Química Orgânica

TESE DE DOUTORADO

**“ESTERIFICAÇÃO SELETIVA PARA A
SEPARAÇÃO DE ESTERÓIS, ÁCIDOS RESÍNICOS
E ÁCIDOS GRAXOS DO RESÍDUO OLEOSO DE
MADEIRA (*TALL OIL*)”**

Henrique Jorge Sousa Sales

Orientador: Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt

Campinas, SP

Fevereiro de 2007



“Afluente (“furo”) Médio Juruá, estado do Amazonas”

“O caminho mais claro até o Universo é através de um bosque Selvagem”

John Muir – 1847/1916

“Dedico este trabalho à minha família e aos meus amigos,
sem os quais nada disto seria possível”.

Agradecimentos

Agradeço

Ao Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt, pela amizade e orientação.

A Oscar Marten e Setsuo Sato, da Cognis Brasil, pela amizade e orientação.

Ao apoio financeiro concedido pela Cognis Brasil Ltda., que possibilitou a execução deste trabalho.

Ao Dr. Peter Kempers e a Dra. Sabine Both, pela ajuda na parte experimental na Alemanha.

A Hercules Peloggia, Carlos Moura e Pedro Henrique Bordão Moreira (Cognis Brasil), pela ajuda na parte experimental no GDA-Cognis Brasil.

Ao Prof. Dr Dalmo Mandelli, pelas sugestões e a ajuda na revisão da redação final da tese.

A Camila e ao Sérgio (Jordan), pela ajuda na revisão da tese.

Aos meus amigos Emerson Dallan, Alfredo Luiz Ferreira, Alexander Swank, Leonardo Salemi e Adriana D'avila Couto, que sempre estiveram por perto.

Ao rio Juruá, no estado do Amazonas, que após um naufrágio me devolveu o meu computador com a minha tese quase intacta.

À Direção e aos funcionários do Instituto de Química da UNICAMP.

Aos colegas do grupo de pesquisa do Prof. Ulf, Marcelo (Pinhal), Rose, Pedro, Sérgio (Jordan), Alessandra (Pipoca), Ícaro, José Luis (Zé Formol), Uli, Jorge, Renato, Fábio, Camila, Marcelo, Vera e Valquíria, que muito contribuíram para este trabalho.

CURRICULUM VITAE

Henrique Jorge Sousa Sales

Rua Benedito Osvaldo Lecques, 200 apto 116
PQ Res. Aquáriu, São José dos Campos-SP
CEP 12246-021
Tel.: (0xx12) 3236-5928

Brasileiro
Solteiro
34 anos
hsalles@hotmail.com

I – Formação Acadêmica

1. Mestrado em Química

Área: Química Orgânica

Local: Laboratório de Catálise, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) -
Campinas – SP. Orientador: Prof. Dr. Ulf F. Schuchardt.

“Epoxidação de Óleo de Soja Catalisada por CH_3ReO_3 ”

Período: mar/1997 – jun/2000.

2. Bacharelado em Química

Local: Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) - Campinas - SP.

Período: mar/1993 - dez/1997.

II – Experiência Profissional.

1. *Cognis do Brasil Ltda.*

Período: jul/03 – atual.

Cargo: Gerente de Tecnologia para a América Latina.

Responsável, para a América Latina, pelo planejamento e controle das atividades de desenvolvimento e aplicação de novos produtos e processos na área de cosméticos e domissanitários, suporte e assistência técnica a clientes, à produção e ao Depto. de Vendas, visando atender às necessidades do mercado. Atuação no desenvolvimento de novas formulações, avaliação da performance de novos produtos e transferência de tecnologia para a área produtiva dos novos produtos desenvolvidos.

2. *Henkel S/A Indústrias Química / Cognis do Brasil Ltda.*

Período: jan/97 – jun/03.

Cargo: Químico de Desenvolvimento e Aplicação II.

Co-Responsável pela área de desenvolvimento de novos produtos (R&D Research & Development).

Atuação no desenvolvimento de novos produtos e síntese de novas substâncias para as seguintes áreas: Adesivos, Cosméticos, Têxtil, Tintas, Plástico, Couro, Agro e Mineração.

Responsável pela implementação de novos produtos da escala laboratorial para escala piloto e produção.

Responsável pela otimização de processo para os produtos existentes.

III – Experiência Acadêmica

1. *Laboratório de Calorimetria – Instituto de Química - UNICAMP.*
Área: Departamento de Físico-Química.
Período: ago/96 – jul/97.
Projeto: “Estudo do Efeito da Adição de Antibióticos na Fermentação Alcoólica. Monitoramento do Processo Fermentativo por Calorimetria”.
Bolsa de Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/PRP
2. *Laboratório de Calorimetria – Instituto de Química - UNICAMP.*
Área: Departamento de Físico-Química.
Período: ago/95 – jul/96.
Projeto: “Interfaceamento de um Microcalorímetro de Fluxo a um Microcomputador para Monitorar a Fermentação Alcoólica”.
Bolsa de Iniciação Científica: PIBIC/CNPq/PRP
3. *Laboratório de Produtos Naturais – Instituto de Química - UNICAMP.*
Área: Departamento de Química Orgânica.
Período: abr/95 – jul/95.
Projeto: “Transformação Química de Diterpenos Naturais Abundantes em Substâncias Biologicamente Ativas”.
Bolsa de Iniciação Científica: SAE/UNICAMP
4. *Laboratório de Produtos Naturais – Instituto de Química - UNICAMP.*
Área: Departamento de Química Orgânica.
Período: abr/94 – mar/95.
Projeto: “Síntese e Estudo de RMN¹³C de Diterpenos da Classe Clerodanos”.
Bolsa de Iniciação Científica: SAE/UNICAMP
5. *All Química Empresa Júnior UNICAMP.*
Área de Atuação: Consultoria na área química.
Local: Instituto de Química - UNICAMP
Período: nov/95 – nov/96.
6. *Programa seu Colégio na UNICAMP.*
Área de Atuação: Monitor.
Local: Instituto de Química - UNICAMP
Período: 18/08/1995 e 12/09/1997

IV – Publicações

1. A. Nogueira, H. Sales, "Performance of Cupuassu Products on Hair Care Applications", 24th IFSCC Congress Osaka Japan – Integration of Cosmetic Sciences, 2006.
2. T. Costa, P. Hennies, A. Oliveira, T. Victorio, E. Lima, H. Sales, M. de Paula, J. Alencastre, R. Biaggio; "Novo Tensoativo Anfótero Derivado de Manteiga da Biodiversidade Brasileira", XVII Congresso Latino-Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos, 2005.
3. T. Parreira, M. Ferreira, H. Sales, W. Almeida, "Quantitative Determination of Epoxidized Soybean Oil Using NEAR Infrared Spectroscopy and Multivariate Calibration", Applied Spectroscopy, 2002.
4. H. Sales, R. Cesquini, S. Sato, D. Mandelli and U. Schuchardt, "Epoxidation of Soybean Oil Catalysed by $\text{CH}_3\text{ReO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ", Stud. Surf. Sci. Catal., 130-B, 2000, pg. 1661.

V – Apresentação em Congressos Internacionais

1. A. Nogueira, H. Sales, "Performance of Cupuassu Products on Hair Care Applications", 24th IFSCC Congress Osaka - Japan – Integration of Cosmetic Sciences, 16-19 Outubro, 2006.
2. T. Costa, P. Hennies, A. Oliveira, T. Victorio, E. Lima, H. Sales, M. de Paula, J. Alencastre, R. Biaggio; "Novo Tensoativo Anfótero Derivado de Manteiga da Biodiversidade Brasileira", XVII Congresso Latino-Americano e Ibérico de Químicos Cosméticos, Cusco – Peru, 4-7 Setembro, 2005.
3. H. Sales, R. Cesquini, S. Sato, D. Mandelli and U. Schuchardt, "Epoxidation of Soybean Oil Catalyzed by $\text{CH}_3\text{ReO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ", 12th International Congress on Catalysis, Granada - Espanha, 9-14 Julho 2000.
4. H. Sales, R. Cesquini, S. Sato, D. Mandelli and U. Schuchardt, "Epoxidação de Óleo de Soja Catalisada por CH_3ReO_3 Heterogeneizado em Polímeros Orgânicos", XVII Simpósio Ibero-Americano de Catálise, Porto - Portugal, 16-21 Julho, 2000.

VI – Apresentações em Congressos Nacionais

1. T. F. Parreira, M. M. C. Ferreira, H. Sales e W. B. Almeida, "Calibração Multivariada do Óleo de Soja Epoxidado a Partir de Espectros na Região do IV-Próximo", 10^o Encontro Nacional de Química Analítica, Santa Maria – RS – Brasil, 31/08 a 3/09, 1999.
2. M. M. C. Ferreira, L. C. Sabino, H. Sales e W. B. Almeida, "Desenvolvimento de Modelo de Calibração Multivariada em Espectroscopia de Infravermelho", 10^o Encontro Nacional de Química Analítica, Santa Maria – RS – Brasil, 31/08 a 3/09, 1999.
3. H. Sales, D. Mandelli e U. Schuchardt, "Epoxidação e Caracterização de Ésteres Metílicos de Ácidos Graxos Catalisada por $\text{CH}_3\text{ReO}_3/\text{H}_2\text{O}_2$ ", 22^a

Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – SP - Brasil, 25-28 de Maio, 1999.

4. H. Sales e P. L. O. Volpe, “Construção e Informatização de um Microcalorímetro de Batelada para o Monitoramento da Fermentação Alcoólica em Tempo Real”, 20ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química, Poços de Caldas – SP - Brasil, 24-27 de Maio, 1997.
5. H. Sales e P. L. O. Volpe, “Interfaceamento de um Microcalorímetro de Fluxo a um Microcomputador para Monitorar a Fermentação Alcoólica”, IV Congresso Interno de Iniciação Científica da Universidade Estadual de Campinas, Campinas – SP – Brasil, 28/10 a 01/11, 1996.

VII – Patentes

1. Título: “Processo de Epoxidação de Óleos Vegetais, com Peróxido de Hidrogênio Aquoso catalisado por CH_3ReO_3 , Homogêneo e Heterogeneizado, na Presença e Ausência de Solvente” INPI Nº PI9905464-7.
Autores: Henrique Sales, Dalmo Mandelli e Ulf Friedrich Schuchardt.
2. Título: “Plasticized poly vinyl chloride composition” US 2006/0135666A1.
Autores: Henrique Sales, Wanderson Bueno e Katia Braga.
3. Título: “Plasticized compositions for nitrocellulose based resins” WO 2004/052978A1.
Autores: Henrique Sales, Wanderson Bueno e Katia Braga.
4. Título: “Methyldimerate and sulphonated, sulphated, sulphited methyldimerate as raw material and intermediates for leather fat liquors compositions”. C 2746, submitted.
Autores: Valter Graffunder, Henrique Sales, Sergio Ulyses e Setsuo Sato.
5. Título: “Process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil”. WO 2004/074233A1.
Autores: Henrique Sales, Setsuo Sato, Hercules Peloggia, Sabine Both, Peter Kempers, Ulrich Schorken e Thomas Wolf.
6. Título: “Process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil”. WO 2004/080942A1.
Autores: Henrique Sales, Setsuo Sato, Hercules Peloggia, Sabine Both, Peter Kempers, Ulrich Schorken e Thomas Wolf.
7. Título: “Use of Cupuassu Butter Based Amphoteric Surfactants” PI0403781-2 (nacional); PCT/Br2005/000181 (internacional).
Autores Cognis Brasil: Rosa Maria Teixeira Pagé Biaggio, Setsuo Sato, Juliana Bucchini Alencastre, Carlos Moura e Henrique Jorge Sousa Sales, Autores Natura Cosméticos S.A.: Tiago Costa Beber, Rosa Maria da Cunha Canto Friedlander, Tereza Maria de Senne Peronovich Victorio e Edjane dos Santos Lima.

VIII – Idiomas

1. Inglês: Fluente.
2. Espanhol: Fluente.
3. Alemão: Conhecimentos básicos.

“ESTERIFICAÇÃO SELETIVA PARA A SEPARAÇÃO DE ESTERÓIS, ÁCIDOS RESÍNICOS E ÁCIDOS GRAXOS DO RESÍDUO OLEOSO DE MADEIRA (TALL OIL)”

Autor: Henrique Jorge Sousa Sales

Orientador: Prof. Dr. Ulf Schuchardt

Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas

CP 6154, 13083-970, Campinas - SP

Resumo

Neste trabalho, estudamos a esterificação seletiva química e enzimática para a separação dos esteróis, ácidos resínicos e ácidos graxos do resíduo oleoso de madeira, o *Crude Tall Oil* (CTO). A reação de esterificação enzimática (*Candida antarctica*, lipase do tipo B) foi otimizada utilizando-se um planejamento fatorial 2^5 . Os fatores estudados foram o tempo de reação (h), a temperatura da reação ($^{\circ}\text{C}$), o teor de catalisador (%), o teor de metanol (%) e o teor de água (%). Com o aumento da temperatura de 24 para 60 $^{\circ}\text{C}$ observamos uma redução média na taxa de conversão de 26,6 %. O aumento da percentagem de metanol de 5 para 15 % também apresentou um efeito negativo na taxa de conversão de 13,1 %; isso indica uma inativação térmica (com o aumento da temperatura) e uma inativação do sítio ativo da enzima pelo metanol. O aumento da percentagem de água de 0 para 15 % e do tempo de reação de 6 para 24 h apresentou um aumento de 31,2 e de 8,1 %, respectivamente, para a conversão. A interação entre a água e o metanol apresentou um efeito positivo de 22,5 % sobre a conversão, sendo que a melhor condição foi a de efetuar a reação à baixa temperatura (24 $^{\circ}\text{C}$) com altos teores de água (10-15%) e metanol (10-15%). A adição do metanol em duas etapas também favoreceu a reação, devido ao efeito de desativação que o metanol tem sobre a enzima. O processo foi implementado em produção, onde 13,7 tons de CTO foram esterificadas em um tanque de 25 m³ e, após 166 h de reação, o índice de acidez caiu de 153,5 para 57,4 mgKOH/g. Através das análises do teor de ácidos resínicos livres, constatamos a total esterificação dos ácidos graxos presentes no CTO. O catalisador enzimático foi adsorvido em polipropileno e foram produzidos dois catalisadores heterogêneos com 0,2 g/g e 0,5 g/g; a relação 0,2 g/g foi a que apresentou a melhor relação custo-benefício para as reações em batelada. O catalisador heterogêneo foi empacotado em uma coluna, e essa foi utilizada para os experimentos de esterificação contínua. O catalisador se mostrou estável por mais de 50 dias. Comparando a performance do processo enzimático x processo químico, o catalisador enzimático apresentou melhor produtividade e seletividade. O resíduo obtido pelo fracionamento em um evaporador *thin film* apresentou um alto teor de esteróis livres (1,83%) e esteróis esterificados (22,31%). A fração leve do CTO esterificado foi fracionada em uma coluna de destilação piloto. Com este novo processo, obtivemos ésteres metílicos com alto grau de pureza e isento de contaminação por ácidos resínicos. No processo de purificação por destilação, obtivemos ácidos resínicos com 72,3% de pureza. O processo de esterificação seletiva e de fracionamento do CTO foi patenteado pela Cognis do Brasil.

“PROCESS FOR OBTAINING FATTY ACID ALKYL ESTERS, ROSIN ACIDS AND STEROLS FROM CRUDE TALL OIL”

Author: Henrique Jorge Sousa Sales
Supervisor: Prof. Dr. Ulf Schuchardt
Instituto de Química - Universidade Estadual de Campinas
CP 6154, 13083-970, Campinas - SP

Abstract

A process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from Crude Tall Oil was developed. As first process step, a chemical or enzymatic esterification has been proposed. It has been shown that the enzymatic esterification of crude tall oil is technically and economically feasible. A 2⁵ experimental design, to optimize the enzymatic process, was done. The factors studied were; reaction time (h), temperature (°C), catalyst (%), methanol (%) and water (%). Increasing the temperature to 60 °C, the conversion decreased 26.6%. The use of high amount of methanol resulted on a conversion of 13.1%. The increase of reaction time and amount of water improved the conversion in 8.1 % and 31.2 %. The best conditions found were reaction time (24 h), temperature (25 °C), water (10-15 %) and methanol (10-15 %). Dosage of methanol must be used because with higher amount of alcohol occurs deactivation of the enzyme. The laboratorial scale experiments were successfully, transferred to a 25 m³ pumped reactor in the industrial plant. An acid value reduction from 153.5 to 57.4 in 166 hrs could be achieved. Using an immobilized biocatalyst, 0.2 g/g and 0.5 g/g, experiments in a stirred reactor have been performed. The best results were obtained with the 0.2 g/g catalyst system. The biocatalyst was used for successive batches. A continuous process in a column was successfully performed in laboratorial scale. The column was stable for more than 50 days in continuous operation. We compared the performance of enzymatic and chemical esterification. The enzymatic process has better productivity than the chemical process. The separation of the methyl esters and rosin acids from the sterol borates by thin film distillation produced a pitch with (1.83 %) of free sterols and (22.31 %) of total sterols. The separation of the methyl esters from the rosinic acids by distillation produced a high purity methyl ester free of resinic acids and a resinic acid with 72.3 % of purity.

The process consists of five steps: 1- Enzymatic and chemical esterification of the tall oil fatty acids with methanol to convert the TOFA in methyl esters; 2- Stripping of water/methanol; 3- Esterification of the free sterols with boric acid. 4- Separation of the methyl esters and rosinic acids from the sterol borates by distillation and 5- Separation of the methyl esters from the rosinic acids by distillation.

The process was patented by Cognis Brasil.

Índice Geral

Glossário	xvi
Índice de Tabelas	xvii
Índice de Figuras	xviii
Capítulo 1: Introdução	1
Capítulo 2: Revisão Bibliográfica	3
2.1 <i>Tall Oil</i>	3
2.1.1 Composição Química do <i>Crude Tall Oil</i>	4
2.1.2 Recuperação dos Sabões de <i>Tall Oil</i> do Licor Negro	6
2.1.3 Processo de Acidulação para a Recuperação do CTO Bruto	6
2.1.4 Aplicações para o CTO	7
2.2 Principais Componentes do CTO	8
2.2.1 Ácidos Graxos de <i>Tall Oil</i> (<i>Tall Oil Fatty Acid</i> – TOFA)	8
2.2.1.1 Contribuição do Grupo Carboxílico	11
2.2.1.2 - Contribuição do “hidrogênio ativo” - Figura 5.	12
2.2.1.3 - Contribuição da Olefina	13
2.2.2 Ácidos Resínicos	14
2.2.2.1 - Contribuição do Grupo Carboxílico	18
2.2.2.2 - Contribuição da Olefina	19
2.2.3 Esteróis	20
2.3 Histórico para o processamento do CTO	23
2.4 Processos de Separação	26
2.4.1 Destilação	26
2.4.2 Evaporador <i>Thin Film</i>	28
2.5 Obtenção de Concentrados de Esteróis	29
2.6 Esterificação	31
2.6.1 Esterificação Química	32
2.6.2 Esterificação Enzimática	33
2.6.2.1 Reações hidrolíticas	34
2.6.2.2 – Lipases	36
2.6.2.3 Catálise Enzimática Homogênea (Batelada)	37
2.6.2.4 Catálise Enzimática Heterogênea (Processo Contínuo)	38
2.6.2.5 Biotransformações na Indústria	40
2.7 Planejamento Fatorial, Análise de Variância e Método de Superfície de Resposta	41
Capítulo 3: Objetivos	44
Capítulo 4: Parte Experimental	45

4.1	Reagentes e Solventes Utilizados	45
4.2	Esterificação do CTO Utilizando Catálise Enzimática Homogênea	45
4.2.1	Planejamento de Experimentos Fatorial 2 ⁵	45
4.2.2	Esterificação do CTO com a Adição de Metanol em Duas Etapas	49
4.2.3	Esterificação do CTO em Larga Escala	49
4.3	Esterificação do CTO Utilizando Catálise Enzimática Heterogênea	50
4.3.1	Síntese do Catalisador Heterogêneo	50
4.3.2	Esterificação em Batelada, Utilizando Catalisador Enzimático Imobilizado	51
4.3.3	Esterificação Contínua com Catalisador Enzimático Suportado	51
4.4	Esterificação do CTO com Catálise Química Homogênea	51
4.5	Reação dos Esteróis Presentes no CTO com Ácido Bórico	52
4.6	Cristalização dos Esteróis Presentes no CTO	52
4.7	Fracionamento do CTO	53
4.8	Metilação dos Ácidos Resínicos e Graxos com Diazometano	54
4.9	Métodos Analíticos	54
4.9.1	Análise do Índice de Acidez (I.A.) por Volumetria	55
4.9.2	Teor de Ácidos Resínicos por Volumetria	56
4.9.3	Teor de Esteróis Livres e Totais (CG-FID)	57
4.9.3.1	Análise de Esteróis Totais	57
4.9.3.2	Análise de Esteróis Livres	58
4.10	Caracterização e Quantificação dos Produtos	59
4.10.1	Caracterização por Espectrometria de Massas Acoplado a um Cromatografo a Gás (CG-EM).	59
4.10.2	Análise do Teor de Ácidos Graxos (CG-FID)	60
4.10.3	Quantificação dos esteróis livres e totais por cromatografia em fase gasosa	60

Capítulo 5: Resultados e Discussão: 61

5.1	Composição Média Para os Ácidos Graxos, Resínicos e Substâncias Neutras Presentes no CTO	61
5.2	Esterificação Seletiva Para os Ácidos Graxos Presentes no CTO	63
5.2.1	Otimização da Reação de Esterificação Enzimática Homogênea	63
5.2.2	Esterificação Homogênea em Larga Escala Para o CTO	74
5.2.3	Catálise Enzimática Heterogênea	76
5.2.4	Catálise Química Homogênea	78
5.3	Reação dos Esteróis Presentes no CTO com Ácido Bórico	79
5.4	Fracionamento do CTO	80
5.4.1	Diagrama Proposto Para o Processo de Fracionamento do CTO	80
5.4.2	Estudo do Efeito da Temperatura no Teor dos Esteróis livres e na degradação Térmica Destes em uma Amostra de CTO	82
5.4.3	Fracionamento dos Ésteres Metílicos do CTO em um Evaporador do Tipo <i>Thin film</i>	83
5.4.4	Fracionamento dos Ésteres Metílicos do CTO em uma Coluna de Destilação	88

5.4.5 Caracterização dos Ácidos Resínicos Concentrados (amostra 2), Obtidos do Processo de Fracionamento do CTO	92
5.4.6 Concentração dos fitoesteróis após reação com ácido bórico utilizando-se um evaporador do tipo <i>Thin film</i>	92
5.4.6.1 Etapa 1 Destilação <i>Thin film</i> 190 °C	93
5.4.6.2 Etapa 1 Destilação <i>Thin Film</i> 240 °C	94
5.4.6.3 Caracterização dos Esteróis concentrados, obtidos do processo de fracionamento do CTO	95
Capítulo 6: Conclusões	98
Anexo 1: Cromatogramas dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a diferentes temperaturas	100
Anexo 2: Caracterização dos ácidos resínicos concentrados (por CG-EM), obtidos do processo de fracionamento do CTO	106
Anexo 3: Caracterização dos esteróis concentrados (por CG-EM), obtidos do processo de fracionamento do CTO	115
Anexo 4: Patente Processo CTO	124

Glossário

BREU	Ácidos Resínicos
CG	Cromatografia em Fase Gasosa
CG-EM	Cromatografia em Fase Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
Conv	Conversão
CTO	<i>Crude Tall Oil</i>
DDOS	Destilado de desodorização do óleo de soja
DTO	<i>Distilled Tall Oil</i>
HP	Hewlett Packard
HP-5	Coluna cromatográfica apolar; fase estacionária de metil-siloxano contendo 5% de fenil-siloxano.
I.A.	Índice de Acidez
I.I.	Índice de Iodo
IR	Índice de Refração
I.S.	Índice de Saponificação
IV	Infravermelho (FTIR)
MeOH	Metanol
Pitch	Resíduo de destilação do CTO
AGP	Ácidos Graxos Polinsaturados
TOFA	<i>Tall Oil Fatty Acids</i>
TOP	<i>Tall oil pitch</i>

Índice de Tabelas

Tabela 1: Composição Típica para o <i>Crude Tall Oil</i>	- 4 -
Tabela 2: Variação na composição do CTO entre diferentes árvores.	- 5 -
Tabela 3: Composição físico-química típica para os ácidos resínicos provenientes de goma, CTO e madeira.	- 15 -
Tabela 4: Composição típica para os principais ácidos resínicos presentes em diversas espécies de <i>Pinus</i>	- 17 -
Tabela 5: Composição típica para os principais ácidos resínicos provenientes de <i>Pinus</i> de diversos países.	- 17 -
Tabela 6: Composição de ácidos resínicos em madeira de <i>Pinus</i> , sabão e <i>Tall Oil</i>	- 18 -
Tabela 7: Composição da fração de esteróis (%) de óleos vegetais.	- 22 -
Tabela 8: Comparação entre os pontos de ebulição de alguns ácidos graxos e os seus respectivos ésteres metílicos.	- 31 -
Tabela 9: Fatores do Experimento.	- 46 -
Tabela 10: Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2^5	- 47 -
Tabela 11: Cálculo do Peso Molecular médio para o TOFA.	- 48 -
Tabela 12: Composição e características principais para o CTO.	- 61 -
Tabela 13: Composição obtida para as frações do CTO.	- 62 -
Tabela 14: Efeitos encontrados no estudo da esterificação enzimática homogênea utilizando-se um planejamento fatorial 2^5	- 64 -
Tabela 15: Fatorial em duplicata obtido pela eliminação do fator C.	- 65 -
Tabela 16: Efeitos estimados das variáveis independentes para um modelo de 1ª ordem.	- 69 -
Tabela 17: Comparação entre a esterificação química e enzimática para o CTO.	- 78 -
Tabela 18: Resultados para a esterificação dos esteróis presentes no CTO.	- 80 -
Tabela 19: Resultados (área %) para os compostos presentes no CTO, caracterizados por CG-EM.	- 85 -
Tabela 20: Resultado do fracionamento do CTO em uma coluna de destilação piloto.	- 89 -
Tabela 21: Resultados analíticos obtidos para a amostra 3, proveniente do fracionamento do CTO em uma coluna de destilação.	- 91 -
Tabela 22: Resultados analíticos para a esterificação enzimática do CTO.	- 93 -
Tabela 23: Destilação do CTO-Me em um evaporador do tipo <i>Thin film</i> a 190 °C.	- 94 -
Tabela 24: Destilação do CTO-R em um evaporador do tipo <i>Thin film</i> a 240 °C.	- 95 -

Índice de Figuras

Figura 1: Estruturas para alguns materiais graxos, presentes no CTO de <i>Pinus</i> . - 8	-
Figura 2: Estruturas para os ácidos graxos mais abundantes presentes no <i>Crude Tall Oil</i> americano.....	- 9 -
Figura 3: Fracionamento do CTO.	- 10 -
Figura 4: Hidrogenação de ácidos graxos para a produção de álcool graxo.	- 12 -
Figura 5: “Hidrogênios ativos” para o ácido linoléico.	- 12 -
Figura 6: Sulfonação do oleato de metila.	- 13 -
Figura 7: Dimerização de ácidos graxos para a produção de ácidos diméricos. - 14	-
Figura 8: Classes de esqueletos básicos para os ácidos resínicos.....	- 15 -
Figura 9: Principais ácidos resínicos constituintes da fração ácida do CTO.....	- 16 -
Figura 10: Síntese de ésteres de glicerínicos de ácidos resínicos provenientes do CTO.	- 19 -
Figura 11: Desidrogenação do ácido abiético.....	- 20 -
Figura 12: Estrutura do colesterol e sua numeração.	- 20 -
Figura 13: Estrutura de vários esteróis e triterpenos.	- 21 -
Figura 14: Materiais de enchimento interno de colunas de destilação. ⁽¹⁾	- 27 -
Figura 15: Evaporador <i>Thin Film</i>	- 28 -
Figura 16: Mecanismo de Esterificação Química.....	- 32 -
Figura 17: Ação catalítica das enzimas (modelo chave-fechadura).....	- 34 -
Figura 18: Mecanismo de atuação da Serina Hidrolase.	- 35 -
Figura 19: Tanque de 25 m ³ com sistema de recirculação.....	- 50 -
Figura 20: Autoclave de 2 L BEP 280.....	- 52 -
Figura 21: Evaporador “ <i>thin film</i> ”.	- 53 -
Figura 22: Sistema reacional para a esterificação com diazometano.....	- 54 -
Figura 23: Gráfico normal dos efeitos, obtidos no planejamento fatorial 2 ⁵	- 64 -
Figura 24: Efeito na interação entre a água e o metanol na conversão.....	- 66 -
Figura 25: Ciclo catalítico para a catálise enzimática.	- 67 -
Figura 26: Mecanismo proposto para a desativação do catalisador enzimático pelo metanol.	- 67 -
Figura 27: Gráfico das respostas médias em função dos fatores metanol, água e temperatura.	- 70 -
Figura 28: Gráfico da superfície de resposta para o metanol x água.	- 70 -
Figura 29: Gráfico da superfície de resposta para o temperatura x metanol.	- 71 -
Figura 30: Esterificação do CTO a 24°C em 24h com diferentes teores (%) de enzima/metanol/água.	- 72 -
Figura 31: CTO esterificado com 10 % de metanol, 0,05 % de enzima a 45 °C, com diferentes teores de água.	- 73 -
Figura 32: Esterificação do CTO com 15 a 20 % de metanol, 0,05 % de enzima, 45 °C e 10 % de água.....	- 74 -
Figura 33: Esterificação contínua do CTO em um tanque de 25 m ³ com 0,05 % de enzima, 15 % de metanol, 15 % de água a 24 °C.	- 75 -

Figura 34: Ciclos reacionais consecutivos para a enzima imobilizada (cada ciclo = 1 dia), com diferentes teores de água e catalisador (a - 5% de catalisador 0,5g/g e 0% de água; b - 5% de catalisador 0,5g/g e 5% água; c - 5% de catalisador 0,5g/g e 10% água; d - 5% de catalisador 0,5g/g e 15% água; e - 5% de catalisador 0,5 g/g e 10% água/etanol; f - 10% de catalisador 0,2 g/g e 10% água), 10% de metanol, 24h de reação a 30°C.....	- 76 -
Figura 35: Esterificação contínua do CTO a 35 °C com 10 % de água e 10 % de metanol (cada ciclo = 1 dia).....	- 77 -
Figura 36: Síntese do tri-esterol éster de boro.....	- 79 -
Figura 37: Descrição do processo de separação.....	- 81 -
Figura 38: Efeito da temperatura no teor de estero livre em uma amostra de CTO, aquecida em um balão volumétrico de 2 L por 3h.	- 82 -
Figura 39: Cromatograma típico para o CTO metilado.	- 84 -
Figura 40: Estruturas para os compostos presentes no CTO caracterizados por CG-EM.....	- 86 -
Figura 41: Destilação do CTO esterificado (CTO-Me) em um evaporador do tipo <i>thin film</i> sob vácuo a diferentes temperaturas. MP = Matéria Prima, CTO-Me antes da destilação.....	- 87 -
Figura 42: Comparação entre metodologias analíticas para o cálculo do teor relativo de ácidos resínicos por cromatografia de fase gasosa (CG-FID) e por titulação (método O-67a Cognis).....	- 88 -
Figura 43: Cromatograma para a destilação dos ácidos resínicos do CTO - amostra 1.....	- 89 -
Figura 44: Cromatograma para a destilação dos ácidos resínicos do CTO - amostra 2.....	- 90 -
Figura 45: Cromatograma para a destilação dos ésteres metílicos do CTO - amostra 3.....	- 91 -
Figura 46: Cromatograma para o <i>pitch</i> purificado do CTO.....	- 96 -
Figura 47: Cromatograma fitoesterol cristalizado.	- 96 -
Figura 48: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 140°C.	- 101 -
Figura 49: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 150°C	- 102 -
Figura 50: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 160°C	- 103 -
Figura 51: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 170°C	- 104 -
Figura 52: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 190°C	- 105 -
Figura 53: Cromatograma para uma amostra com alto teor de ácidos resínicos.....	- 107 -
Figura 54: Espectro de massa do metil pimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.....	- 108 -
Figura 55: Espectro de massa do metil sandaracopimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO. .	- 109 -

Figura 56: Espectro de massa do metil isopimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.....	- 110 -
Figura 57: Espectro de massa do $C_{21}H_{32}O_2$ proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.....	- 111 -
Figura 58: Espectro de massa do metil dehidroabietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO..	- 112 -
Figura 59: Espectro de massa do metil abietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.....	- 113 -
Figura 60: Espectro de massa do metil neoabietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.....	- 114 -
Figura 61: Cromatograma ampliado dos fitoesteróis obtidos por cristalização..	- 116 -
Figura 62: Espectro de massa do campesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 117 -
Figura 63: Espectro de massa do campestanol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 118 -
Figura 64: Espectro de massa do estigmaesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 119 -
Figura 65: Espectro de massa do sitoesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 120 -
Figura 66: Espectro de massa do sitoestenol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 121 -
Figura 67: Espectro de massa do fucosterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.....	- 122 -
Figura 68: Espectro de massa do stigmast-7-en-3-ol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.	- 123 -

Capítulo 1: Introdução

A utilização de esteróis na nutrição humana, devido à sua capacidade hipocolesterolêmica,⁽¹⁾ tem aumentado muito a demanda por esteróis naturais provenientes de plantas não geneticamente modificadas. O desenvolvimento de um processo de separação comercial de esteróis provenientes do resíduo oleoso de madeira, ou *Crude Tall Oil* (CTO), tem muito interesse para a indústria, já que o CTO é uma das maiores fontes inexploradas de esteróis.

O CTO é o principal subproduto do processo kraft de polpação de madeira de *Pinus* e trata-se de uma mistura de ácidos graxos, ácidos resínicos, esteróis e substâncias insaponificáveis. É obtido pela acidificação dos sabões de ácidos graxos e ácidos resínicos recuperados do licor negro concentrado.⁽²⁾ O mercado global para o CTO é estimado em mais de 1.500.000 ton/ano. O maior produtor são os Estados Unidos, com 840.000 ton/ano, seguido pela Escandinávia, com 315.000 ton/ano.⁽³⁾

A tecnologia atual para o refino do CTO é baseada na destilação a vácuo, através da qual sua fração ácida é separada por meio de várias colunas de destilação. Normalmente, utiliza-se uma primeira coluna de destilação para a separação da fração mais volátil (ácidos graxos e resínicos) da mais pesada (denominada *pitch*), que contém esteróis, hidrocarbonetos, álcoois de cadeia longa e ceras de alta massa molar. Uma segunda coluna é normalmente usada na fração volátil para separar os ácidos graxos (*Tall Oil Fatty Acid* – TOFA) dos ácidos resínicos (BREU),⁽⁴⁾ sendo estas duas frações as de maior valor comercial. Por outro lado, atualmente o *pitch* não possui valor comercial, sendo utilizado apenas como combustível.

Devido às altas temperaturas durante as etapas de destilação, uma grande parte dos esteróis sofre degradação térmica. Algumas variações do processo industrial, como a separação das substâncias neutras utilizando evaporadores de filme ou película antes da acidificação do sabão de *tall oil*, são mencionadas na

¹ W.H. Ling, P.J.H. Jones, *Atherosclerosis*, 118 (1995) 319.

² R. E. Hughes, US Patent 4 524 024 (1985).

³ L. H. Norlin, B. Kemi, *Ullmanns Encyclopaedia of Technical Chemistry*, A 26 (1995) p. 57.

⁴ D. T. A. Hulbers, A. M. Robbins, D. H. Sullivan, US Patent 6 414 111 (2002).

literatura.⁽⁵⁾ Processos utilizando a saponificação dos ácidos carboxílicos e a extração por solventes para a separação das substâncias neutras, são também mencionados em patentes.^(6,7) No entanto, ainda existem poucos processos economicamente viáveis para a extração dos esteróis presentes no CTO e no *pitch*.

O processo desenvolvido neste trabalho baseia-se na utilização de um catalisador químico ou enzimático que promove a esterificação seletiva dos ácidos graxos, para aumentar a diferença de volatilidade com relação aos ácidos resínicos, conseguindo com isso uma separação mais eficiente sem a necessidade de colunas de fracionamento de alta performance e altas temperaturas. O CTO é esterificado com metanol, utilizando-se uma lipase do tipo B *Candida antartica* (catálise enzimática) ou ácido metanosulfônico (catálise química) como catalisador, sendo que nessa condição somente os ácidos graxos se transformam em ésteres. Após a metilação da fração graxa, os esteróis livres presentes no CTO são esterificados com ácido bórico. Com isto, consegue-se aumentar a diferença do ponto de ebulição entre os ésteres graxos, os ácidos resínicos e os esteróis. A separação pode então ser feita em colunas de recheio comum, destilação tipo batelada ou utilizando evaporadores tipo filme (*Thin film*) ou de películas raspadas. A menor temperatura do processo diminui as reações indesejáveis, como a degradação dos esteróis e a decomposição e descarboxilação dos ácidos resínicos.

⁵ P. Knoer, G. Pieh, US Patent 3 644 179 (1972).

⁶ R. Rohr, J.A.T. Quijano, US Patent 6 344 573 (2002).

⁷ T.J. Bander, W.B. Bedwell, S.P. Johnson, US Patent 4 977 243 (1990).

Capítulo 2: Revisão Bibliográfica

2.1 - *Tall Oil*

As madeiras de coníferas, especialmente *Pinus*, contêm aproximadamente 3 % de uma fração de baixa massa molecular constituída por ácidos resínicos livres, ácidos graxos de cadeia longa (primariamente na forma de glicerídeos), esteróis, terpenos voláteis e outros materiais insaponificáveis.

Esses materiais, que são a maior parte do extrato proveniente da madeira, constituem o principal subproduto do processo de polpação kraft, ou processo sulfato, em uma indústria de papel e celulose que utiliza a madeira de *Pinus* como matéria-prima. Os glicerídeos e os ácidos resínicos são saponificados durante o processo de digestão alcalina, e o sabão resultante é dissolvido no licor do processo de polpação.

O CTO é obtido pela acidificação dos sabões de ácidos graxos e resínicos recuperados do licor negro concentrado.⁽⁸⁾

A indústria sueca de celulose fez a primeira contribuição para o nome "*tall oil*". Do processo sulfato, eles obtinham um subproduto oleoso que chamaram "*talloja*", da palavra sueca "*tall*" que significa *Pinus*, e do sufixo "*oja*" que significa óleo. Então, a tradução literal seria "óleo de *Pinus*". Como o óleo de *Pinus* já era um produto comercial conhecido nos Estados Unidos e Europa, isso causou confusão visto que o novo "óleo de *Pinus*" era um produto completamente diferente. Os alemães esclareceram a questão dando ao material o nome de "*tallöl*", combinando a palavra sueca para *Pinus* e a palavra alemã "*öl*", que significa óleo. Por similaridade, nos Estados Unidos adotou-se o nome "*tall oil*".⁽⁹⁾

Em 1893, descobriu-se que o licor negro continha ácidos graxos e sabões resínicos; contudo, somente em 1901 ocorreu a primeira produção do CTO na Suécia.⁽¹⁰⁾

⁸ J. Drew, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, Ed. D. F. Zinkel e J. Russel, Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 29.

⁹ J.M.F. Nogueira, "Separação entre ácidos gordos e resínicos do *Crude Tall-Oil*", Tese de Doutorado em Química Orgânica, FCUL, 1995.

¹⁰ A. Linder, Tall Oil Refining, ACTA Polytechnica, 95 (1952) 4.

No Brasil, não havia produção de derivados de *Pinus* em larga escala, até recentemente com a implementação do *P. elliotti*.

De acordo com Critchfiel e Little,⁽¹¹⁾ o gênero *Pinus* é constituído por 54 espécies, sendo que o *P. elliotti* foi a que melhor se adaptou às condições climáticas locais.

2.1.1 - Composição Química do *Crude Tall Oil*

Os principais componentes do *crude tall oil* são os ácidos graxos, ácidos resínicos e os materiais insaponificáveis, que compreendem esteróis, álcoois e hidrocarbonetos. A composição depende da variedade, localização geográfica, tipo de processamento e período do ano em que a coleta foi realizada, (Tabela 1).

Tabela 1: Composição Típica para o *Crude Tall Oil*.⁽³⁾

Característica	Escandinávia	Estados Unidos	Canadá	França
Índice de Acidez mgKOH/g	145,0	165,0	140,0	165,0
Índice de Saponificação mgKOH/g	160,0	172,0	165,0	172,0
Ácidos Graxos %	45,0	45,0	42,0	40,0
Palmítico (C16:0)*	1,5	3,0	2,0	2,0
Esteárico (C18:0)	0,5	1,0	1,0	1,0
Oléico (C18:1)	10,0	20,0	10,0	15,0
Linoléico (C18:2)	17,0	13,0	15,0	11,0
Linolénico (C18:3)	5,0	1,0	3,0	1,0
Araquídico (C20:0)	1,0	0,5	1,0	0,5
Outros	10,0	6,5	10,0	9,5
Ácidos Resínicos %	30,0	42,0	30,0	50,0
Pimárico	2,0	3,0	2,0	5,0
Palústrico	4,0	7,0	5,0	7,0
Isopimárico	2,0	4,0	4,0	4,0
Abiético	12,0	15,0	10,0	18,0
De-hidroabiético	5,0	4,0	4,0	5,0
Neoabiético	4,0	6,0	3,0	6,0
Outros	1,0	3,0	2,0	5,0
Neutros %	25,0	13,0	28,0	10,0
Umidade	< 2%			
Cinzas	< 0,2%			
Ácido mineral (H ₂ SO ₄)	< 0,02%			
Enxofre	< 0,3%			

* O termo entre parênteses indica o número de carbonos e o número de duplas ligações.

¹¹ W.B. Critchfiel, E.L. Little, Geographic distribution of the pines of the world."USDA for. Sev. Misc. Publ. 991 (1996), p. 87.

O CTO produzido nos Estados Unidos, Canadá, França e Escandinávia apresenta uma grande variação nos teores de ácidos resínicos e neutros (materiais insaponificáveis).

O CTO proveniente da Nova Zelândia apresenta composição similar ao produzido nos Estados Unidos, mesmo sendo proveniente de espécies diferentes de *Pinus*. O CTO chinês apresenta altos teores de ácidos resínicos, e é portanto mais cristalino.

Boyette⁽¹²⁾ estudou os efeitos sazonais para o rendimento e a composição do CTO, em madeira de *Pinus* (de plantas de mesma origem) pré-processada, entre 1966 e 1976, e os rendimentos mais altos foram encontrados em fevereiro e março, e os mais baixos rendimentos, em julho e agosto. Também foram observadas variações nos teores e na composição dos ácidos resínicos, ácidos graxos e material insaponificável.

Impurezas como lignina, resíduo de sabão, emulsão água-óleo, sais sódicos e ácido sulfúrico também são encontradas. O teor dessas impurezas depende da eficiência do processo de lavagem e secagem do produto.

Zinkel^(13,14) estudou a variação, entre diferentes árvores em relação ao rendimento de CTO e à composição em ácidos resínicos, ácidos graxos e material insaponificável, que se encontra apresentada na Tabela 2.

Tabela 2: Variação na composição do CTO entre diferentes árvores.

Árvore Número	1	2	3	Média
CTO lbs/ton	49,6	49,0	41,0	46,5
Ácidos Resínicos %	38,2	41,2	26,3	35,3
Ácidos Graxos %	54,4	51,0	66,3	57,2
Insaponificáveis %	7,2	7,7	7,3	7,4

¹²S.R. Jr Boyette, Pulp and Paper, 51 (1977) 78.

¹³D.F. Zinkel, Tappi (2) 58 (1975) 118.

¹⁴D.F. Zinkel, Tappi (5) 63 (1980) 137.

2.1.2 - Recuperação dos Sabões de *Tall Oil* do Licor Negro

No processo kraft ou sulfato, a madeira picada é digerida com uma solução de sulfeto de sódio (Na_2S), hidróxido de sódio (NaOH), carbonato de sódio (Na_2CO_3) ou Na_2O .

O processo de polpação ocorre a altas temperaturas e pressão em um vaso chamado digestor. O processo de digestão pode ser contínuo ou em batelada. Durante a digestão, as fibras de celulose são separadas dos outros constituintes da madeira.

A solução altamente alcalina usada no processo de digestão, ou "licor branco", forma sais solúveis de sódio da lignina, ácidos resínicos e ácidos graxos. Os sabões e o licor de cozimento são separados da polpa da madeira por meio de uma lavagem com água.

O licor, contendo esses sabões e a água de lavagem, segue para os evaporadores, onde é concentrado (temperatura: aprox. 100°C). Com o aumento da concentração do licor, os sabões de *tall oil* sobem para a superfície do mesmo, de onde podem ser removidos por meio de raspagem mecânica.^(9,15)

O sabão obtido contém aproximadamente 55 % de sais de sódio de ácidos graxos e resínicos, 35 % de água e 10 % de licor negro.

O rendimento do CTO obtido do processo kraft também é afetado pelo tipo de digestor utilizado. Os digestores do tipo batelada apresentam rendimentos superiores aos digestores contínuos.^(16,17)

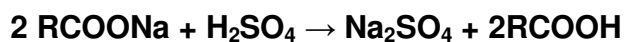
2.1.3 - Processo de Acidulação para a Recuperação do CTO Bruto

Na acidulação do sabão de CTO, o sabão reage com ácido sulfúrico diluído (30 %) a 98°C , produzindo o CTO e o sulfato de sódio como subproduto.

¹⁵ J. M. Drew (Ed.), *Tall Oil Pulp Chem. Assoc.*, New York, 1981.

¹⁶ S. Jr McSweeney, *The New Pulping Process and Wood Chemical Production*, Pulp Chemicals Assoc. Meetings, Point Clear, 1987.

¹⁷ R. Aurell, D.D. Thireault, D.D. Curti, R.G. Seefeldt, *Tappi* 65 (1980) 123.



A reação é controlada até valores de pH entre 2,5 e 3,5, quando se assume a total acidulação do CTO.

A acidulação converte os sabões sódicos em ácidos resínicos e ácidos graxos. A mistura reacional, contendo o CTO liberado, é sedimentada ou centrifugada dependendo do processo utilizado.

Atualmente, existem quatro processos básicos de acidulação de sabão do CTO⁽¹⁸⁾:

- Acidulação e decantação por batelada;
- Acidulação por batelada seguida de separação contínua;
- Acidulação contínua seguida por separação centrífuga;
- Acidulação contínua seguida por separação gravimétrica contínua.

Os primeiros processos implementados foram em batelada, porém atualmente, os processos semi-contínuos e contínuos ganharam maior popularidade, devido a sua maior produtividade.

2.1.4 – Aplicações para o CTO

Nas décadas de 1950 e 1960, o principal uso do CTO era em coberturas de superfícies, devido aos ácidos graxos nele contidos. Atualmente, ele é amplamente utilizado principalmente devido a disponibilidade e seu baixo custo. Diferentemente dos óleos vegetais, a produção do CTO não está relacionada a óleos comestíveis ou produtos agrícolas que sofrem flutuação de mercado, sendo mais usado como um produto químico.

São listados a seguir os seus principais campos de aplicação: revestimento de superfícies; diluentes de plastificantes e estabilizantes; produtos de asfalto;

¹⁸ E.E. McSweeney, Naval Stores Production, Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.), Pulp Chemicals Association Inc., New York, 1989, p. 158-195.

sabões líquidos; desinfetantes; detergentes sintéticos; flotação de minérios; produção de espuma de borracha; fabricação de cola para papel; fabricação de adesivos industriais; fabricação de resinas alquídicas; fabricação de poliamidas; emulsificante; plastificante; cosméticos e medicina.

Dentre as indústrias brasileiras que utilizam os derivados do CTO, destacam-se as indústrias químicas, principalmente as de tintas, resinas, mineração e fertilizantes.

2.2 – Principais componentes do CTO

2.2.1 – Ácidos Graxos de *Tall Oil* (*Tall Oil Fatty Acid* – TOFA)

Os compostos graxos do CTO estão presentes na madeira de *Pinus*, inicialmente na forma de ésteres de glicerol e ácidos graxos de cadeias lineares, com quatorze ou mais átomos de carbono, como mostrado na Figura 1.

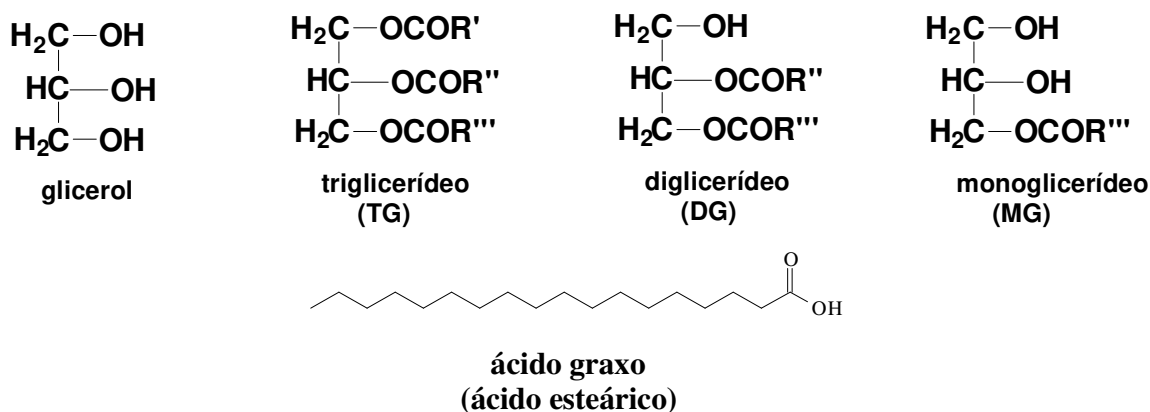


Figura 1: Estruturas para alguns materiais graxos, presentes no CTO de *Pinus*.

O material graxo é convertido em sabão durante o processo de digestão alcalina.

Os diversos ácidos graxos presentes no TOFA diferem entre si pelo número de átomos de carbono em suas cadeias e pela forma de ligação desses átomos

entre si. As cadeias carbônicas são sempre lineares, contendo na maioria das vezes um número par de carbonos.

Os átomos de carbono na formação das cadeias lineares podem achar-se ligados unicamente por ligações simples, nos chamados ácidos graxos saturados (ex. ácido palmítico), ou terem uma ligação dupla, nos ácidos graxos mono-insaturados (ex. ácido oléico), ou ainda terem diversas ligações duplas, ácidos graxos poli-insaturados, (ex. ácido linolênico), como já mostrado na Tabela 1.

As estruturas para os ácidos graxos mais comuns presentes no CTO estão descritas na Figura 2.

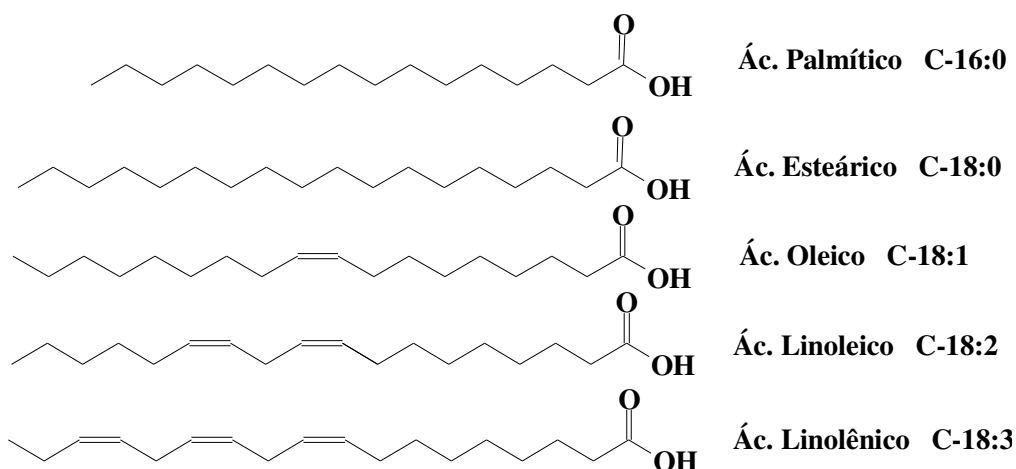


Figura 2: Estruturas para os ácidos graxos mais abundantes presentes no *Crude Tall Oil* americano.⁽¹⁹⁾

Os ácidos graxos insaturados podem apresentar-se em 2 formas isoméricas, de geometria diferenciada pela configuração em torno dos carbonos insaturados: *cis* ou *trans*.

Somente o isômero *cis* é produzido na natureza, enquanto que o isômero *trans* é proveniente do “*stress*” térmico ocorrido durante o processo de destilação do CTO, que também leva à conjugação das duplas de alguns ácidos graxos poli-

¹⁹ D.P. Duncan, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.) Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 349.

insaturados.⁽²⁰⁾ Assim, o processo de fracionamento do CTO para a produção do TOFA resulta em um produto com vários graus de pureza, como indicado na Figura 3.

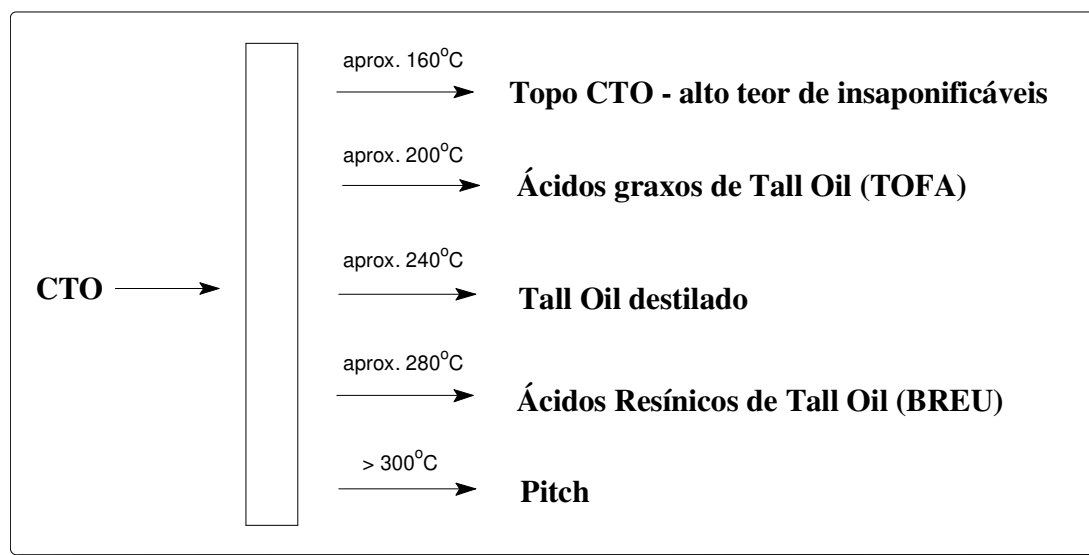


Figura 3: Fracionamento do CTO.⁽¹⁹⁾

Com a implementação de novas técnicas de separação, foi possível produzir em 1942 e 1943 uma mistura de ácidos graxos de CTO, contendo apenas 6 % de ácidos resínicos como impureza. Essas melhorias na qualidade possibilitaram inúmeras novas aplicações para o produto.⁽²¹⁾

Atualmente, o TOFA é considerado altamente puro quando apresenta de 0 a 1% de ácidos resínicos como impureza.

A seguir estão descritas as derivatizações mais comuns para os ácidos graxos provenientes do CTO e suas aplicações.

²⁰ R.W. Johnson, H. Pryde, Fatty Acids, E.h. Pryde (Ed.), Am. Oil Chem. Soc., Champaign III (1979), p. 319.

²¹ W. Haynes (Ed), History of American chemical Industry, Vol. V, D. Van Nostrand Co. Inc., Toronto, 1949, p. 236-237.

2.2.1.1 - Contribuição do Grupo Carboxílico

- Saponificação
Sal sódico: utilizado para flotação de minérios.^(22,23,24)
Sal de alcanolamidas: utilizado como emulsionante.^(25,26)
Sal de cálcio: estabilizante para PVC e impermeabilizante para papel.⁽²⁷⁾
Sal de metais pesados: lubrificantes e estabilizantes para PVC.⁽²⁸⁾
- Esterificação: plastificantes, solubilizantes, biodiesel.⁽²⁹⁾
- Etoxilação: tensoativo de baixo custo.⁽³⁰⁾
- Derivados Nitrogenados
Alcanolamidas: agente de consistência para formulações cosméticas e produtos de limpeza.⁽³¹⁾
Bisisteramida: aditivo para tintas.⁽³²⁾
Dimetilamida: aditivo para tintas.⁽³³⁾
Aminas Graxas: produção de tensoativo catiônico.⁽³⁴⁾
Imidazolininas: inibidor de corrosão.⁽³³⁾
- Descarboxilação: lubrificantes.⁽³⁵⁾
- Hidrogenação: produção de álcool graxo.⁽³⁶⁾ (Mostrado na Figura 4).

²² E.S. Pattison (Ed), Fatty Acids and their Industrial Applications, Marcel Dekker, New York, 1968.

²³ E. Jungermann, Bailey's Industrial Oil and Fat Product, Vol. 1, D. Swern (Ed), Wiley-Interscience, New York, 1979, p. 511.

²⁴ R.A. Grimm, Fatty Acids, E. H. Pryde (Ed.), Am. Oil Chem. Soc., Champaign III, 1979, p. 78.

²⁵ B.M. Vanderbilt, US Patent 2 247 106, (1941).

²⁶ B.M. Vanderbilt, US Patent 2 281 177, (1942).

²⁷ K.S. Markley, Fatty Acids Part 2, K.S. Markley (Ed.), Interscience, New York, 1961, p. 715.

²⁸ E.R. Booser, Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology Vol. 14, Wiley-Interscience, New York, 1981, p. 501.

²⁹ S. Patai (Ed.), The Chemistry of Carboxylic Acids and Esters Interscience, London, 1969.

³⁰ Henkel and Cie, GmGh., Brit. Patent 1 147 482, (1969).

³¹ Dow Chemical Co., The Alkanolamines Handbook, Dow Chemical Co., 1980.

³² W. Umbach, W. Stein, Fette Seifen Anstrichm., 71 (1969) 938.

³³ S.H. Shapiro, Fatty Acids and Their Industrial Applications, E.S. Patison (Ed.), Marcel Dekker, 1968, p. 78.

³⁴ R.A. Reck, J. Am. Oil Chem. Soc., A 796 (1979) 56.

³⁵ J. March, J. Chem. Ed., 40 (1963) 212.

³⁶ J.A. Monick, J. Am. Oil Chem. Soc., A 853 (1979) 56.

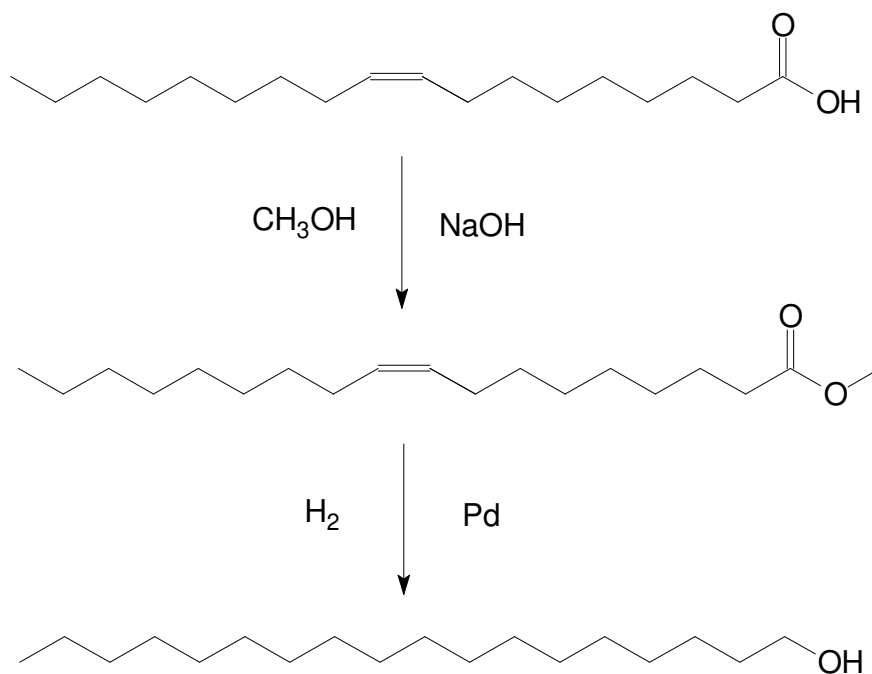


Figura 4: Hidrogenação de ácidos graxos para a produção de álcool graxo.

2.2.1.2 - Contribuição do “hidrogênio ativo” - Figura 5.

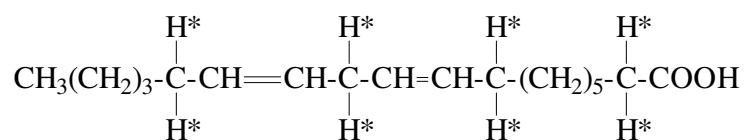


Figura 5: “Hidrogênios ativos” para o ácido linoléico.

Estes hidrogênios são mais reativos, pois estão mais deficientes de densidade eletrônica, já que se encontram próximos a grupos que deslocam esta densidade eletrônica.

- Sulfonação: Tensoativos de baixo custo.⁽³⁷⁾ – Figura 6.

³⁷ A.J. Stirton, J.K. Weil, Anionic Surfactants Part 2, W.M. Linfield (Ed.), Marcel Dekker, New York, 1976, p. 381.

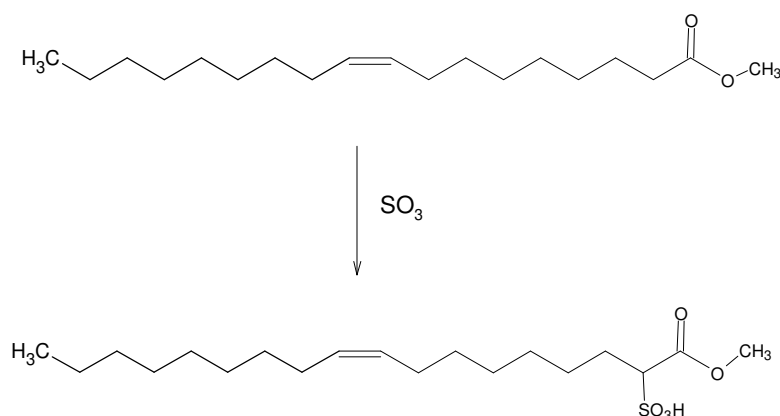


Figura 6: Sulfonação do oleato de metila.

- Conjugação: produção de suplementos alimentares.⁽³⁸⁾

2.2.1.3 - Contribuição da Olefina

- Halogenação: metodologia analítica, para a determinação do índice de iodo.⁽³⁹⁾
- Sulfatação: aditivo para couro.⁽⁴⁰⁾
- Oxidação: aditivo para couro.⁽³⁸⁾
- Epoxidação: plastificante e co-estabilizante para PVC.⁽⁴¹⁾
- Hidrogenação: produção de ácidos graxos saturados.⁽⁴²⁾
- Hidroformilação: produção de resinas alquídicas.⁽⁴³⁾
- Metátese: produção de di-ácidos e hidrocarbonetos insaturados.⁽⁴⁴⁾
- Reações de cicloadição-dimerização: produção de ácidos diméricos utilizado para a produção de poliamidas.⁽⁴⁵⁾ (Apresentado na Figura 7).

³⁸ E.N. Frankel, Fatty Acids, E.H. Pryde (Ed.), Am. Oil Chem. Soc., Champaign, III, (1979), p. 246.

³⁹ W.E Link (Ed), Official and Tentative Methods of the Am. Oil Chem. Soc., Champaign, III, (1973).

⁴⁰ B.A. Dombrow, Anionic Surfactants Part 1, W.M. Linfield (Ed), Marcel Dekker Inc., New York, 1976, p. 233.

⁴¹ M. Hirata, M. Uchida, Shinku Kagaku, 7 (1959) 97.

⁴² H. Bliss, W.C. Sursky, US Patent 2 451 377 (1948).

⁴³ E.N. Frankel, F.L. Thomas, J. Am. Oil Chem. Soc., 50 (1973) 39.

⁴⁴ H.J. Ivin, Olefin Metathesis, Academic Press, London, 1983.

⁴⁵ C.J. Leonard, J. Am. Oil Chem. Soc., A 782 (1979) 56.

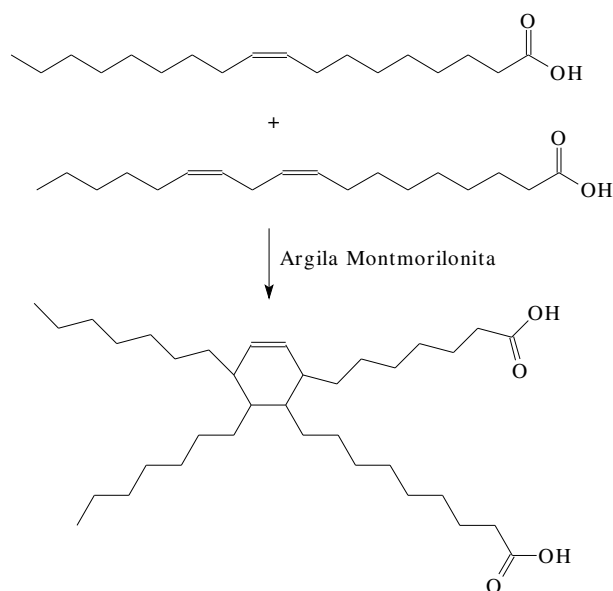


Figura 7: Dimerização de ácidos graxos para a produção de ácidos diméricos.

2.2.2 – Ácidos Resínicos

A utilização dos ácidos resínicos e monoterpenos provenientes de *Pinus* (*Pinus sylvestris*) remonta a um passado distante da história humana. Na bíblia (Gênesis 6:14), esta descrito a utilização do óleo resina de *Pinus*.

Pesquisas arqueológicas demonstram que, nos séculos 2 e 4 a.C. o óleo resina era um importante *commodity* para as civilizações grega, macedônica, da Ásia menor e do Egito. Essas utilizavam a resina de *Pinus* como impermeabilizante, como combustível e em inúmeras aplicações associadas à indústria naval.⁽⁴⁶⁾

Comercialmente, os ácidos resínicos são definidos pela sua fonte: resínicos de goma, obtidos pelo processamento de óleo resínico exudado de árvores vivas; resínicos de madeira, obtidos pela extração por solventes de lascas de madeira virgem; e o resínico de *Crude Tall Oil*, obtido pela destilação do *Crude Tall Oil*. Na Tabela 3, é apresentada a composição físico-química dos ácidos resínicos para esses três tipos de fontes.

⁴⁶ C.D. Dyer, Tese de Mestrado, The physiology and management of naval stores pines and the history of the naval stores industry. University of Georgia, Athens, Ga, 1960, p. 10-32.

Tabela 3: Composição físico-química típica para os ácidos resínicos provenientes de goma, CTO e madeira.⁽⁴⁷⁾

	Resínicos de Goma	Resínicos de CTO	Resínicos de Madeira
Índice de Acidez mgKOH/g	164	167	166
Índice de Saponificação mgKOH/g	172	174	172
Ácidos Graxos %	-	<5,0	-
Insaponificáveis %	8	7	6
Índice de Refração	1,541	1,54	1,545
Densidade g/cm ³	1,07	1,07	1,07

Todos os três tipos consistem primariamente de ácidos C₂₀ diterpeno monocarboxílicos. Estes materiais são compostos por quatro classes de esqueletos básicos: pimarano, isopimarano, abietano e labdano,^(48,49) apresentados na Figura 8.

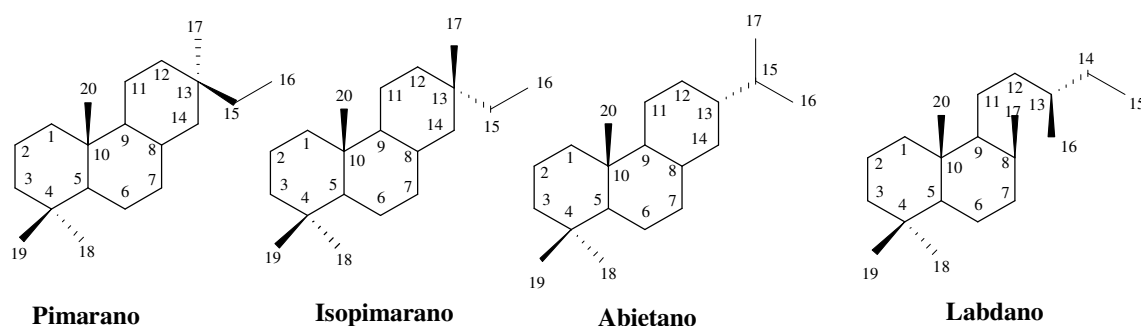


Figura 8: Classes de esqueletos básicos para os ácidos resínicos.

Os ácidos resínicos mais comuns derivados desses quatro esqueletos básicos encontrados no CTO são do tipo abietano, conforme mostrado na Figura 9.^(49,50,51,52)

⁴⁷ E. Strazdins, Paper Sizes and Sizing, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.), Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 575-615.

⁴⁸ E.J. Soltes e D.F. Zinkel, Chemistry of Rosin, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.), Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 262-331.

⁴⁹ J.W. Rowe, et al., Common and systematic nomenclature of cyclic diterpenes. Forest Products Laboratory, Forest Service, USDA, Madison, Wis., 57 (1969), p. 57.

⁵⁰ J. Rigaudy, S.P. Klesney, Nomenclature of Organic Chemistry, Sections A,B,C,D,E,F,; and H, Pergamon Press, New York, 1970.

⁵¹ G. Weissman, Hozforschung 28 (1974) 186.

⁵² D.F. Zinkel, J.K. Toda, J.W. Rowe, Phytochem, 10 (1971) 1161.

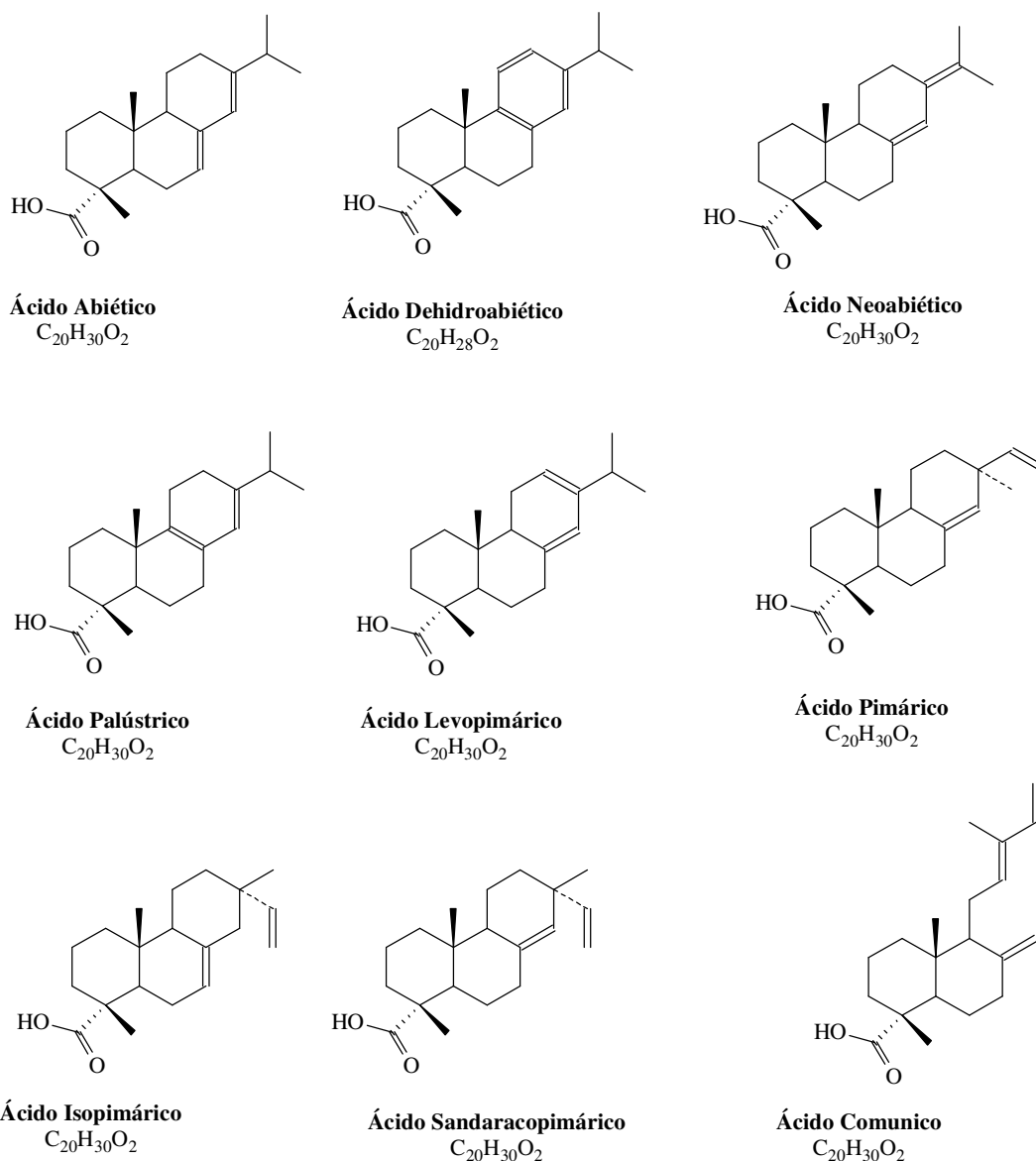


Figura 9: Principais ácidos resínicos constituintes da fração ácida do CTO.

Na Tabela 4, encontramos a composição típica para os principais ácidos resínicos presentes em diversas espécies de *Pinus*.⁽⁵³⁾

⁵³ D.F. Zinkel, Pine resin acids as chemotaxonomic and genetic indicators, Tappi Press, Atlanta Ga, 1977.

Tabela 4: Composição típica para os principais ácidos resínicos presentes em diversas espécies de *Pinus*.⁽⁵⁴⁾

Ácido Resínico	Pimárico	Sandaracopimárico	Elliotinóico	Levopimárico	Isopimárico	Abiético	De-hidroabiético	Neoabiético
Porcentagem de Ácido Resínico na Fração Ácida								
Espécies de <i>Pinus</i>								
P.elliotti var. elliotti	5,1	1,8	3,1	37,0	21,0	9,7	3,7	16,0
P.elliotti var. densa	3,8	1,9	3,1	38,0	21,0	12,0	3,7	16,0
P.palustris	5,4	1,1	0,0	52,0	10,0	9,4	8,3	13,0
P.taeda	8,7	2,2	0,0	64,0		8,6	6,3	9,5
P.ponderosa	7,6	2,9	0,0	40,0	15,0	11,0	8,2	11,0
P.halepensis	0,0	1,2	0,0	39,0	10,0	37,0	1,5	9,7
P.brutia	0,0	1,2	0,0	44,0	10,0	32,0	2,5	10,0
P.pinaster	8,0	2,0	0,0	39,0	12,0	14,0	4,2	18,0
P.caribaea	4,2	2,2	0,0	49,0	8,0	10,0	8,6	16,0
P.peuce	1,8	1,0	0,0	12,0	32,0	35,0	0,8	14,0

Na Tabela 5, encontramos os ácidos resínicos obtidos em diferentes regiões.

Tabela 5: Composição típica para os principais ácidos resínicos provenientes de *Pinus* de diversos países⁽⁵⁴⁾

Origem	Ácido Resínico							
	Pimárico	Sandaracopimárico	Elliotinóico	Levopimárico	Isopimárico	Abiético	Dehidroabiético	Neoabiético
Americano	5,1	1,8	2,8	25,0	17,0	22,0	5,7	20,0
Brasileiro	4,7	1,7	3,2	11,4	18,2	36,3	5,4	15,3
Burmese	7,9	3,0	0,0	44,0	8,3	30,0	6,0	2,2
Chinês	9,2	2,7	0,0	22,0	1,5	44,0	4,3	15,0
Francês	10,0	2,2	0,3	22,0	7,0	36,0	4,9	17,0
Grego	0,0	1,9	0,0	14,0	11,0	50,0	4,5	13,0
Hondurenho	9,6	2,2	0,0	21,0	17,0	22,0	12,0	15,0
Indiano	9,2	1,5	0,0	11,0	20,0	38,0	2,0	18,0
Mexicano	6,8	1,2	0,0	9,8	12,9	53,3	7,8	6,1
Português	8,3	1,4	0,0	20,4	4,5	27,7	5,8	17,2
Russo	7,8	2,4	0,0	27,0	5,6	35,0	5,3	17,0
Espanhol	8,7	1,5	0,0	27,0	0,0	36,0	1,9	24,0
Turco	0,0	1,3	0,0	24,0	13,0	41,0	5,1	15,0

Podemos observar pelos dados das Tabelas 4 e 5 que a composição de terpenos varia de acordo com a espécie de *Pinus* utilizada. O produto mais desejado é o ácido abiético, por suas propriedades de cristalização, sendo muito utilizado na produção de adesivos industriais.

Outros ácidos resínicos encontrados são, em sua grande maioria, produtos de isomerização induzida pelas altas temperaturas de processamento. Na Tabela

⁵⁴ R.V. Lawrence, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds), Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 136-137.

6, encontramos a composição de ácidos resínicos em madeira de *Pinus*, sabão e CTO.

Tabela 6: Composição de ácidos resínicos em madeira de *Pinus*, sabão e *Tall Oil*.⁽⁵⁵⁾

Ácido Resínico	Madeira de <i>Pinus</i>	Sabão CTO	Sabão CTO1	CTO2
Pimárico	8,1	8,4	9,7-11,7	9,5-10,5
Sandaracopimárico	1,6	1,7	1,6-2,0	1,9-2,5
Isopimárico	3,5	3,3	6,0-9,3	5,4-7,8
Levopimárico	30,1	14,3	6,8-9,6	-
Palústrico	15,1	16,8	9,1-14,8	8,1-13,2
Dehidroabiético	14,5	16,3	13,8-20,5	12,8-15,3
Abiético	15,9	27,4	25,2-32,2	39,9-50,4
Neoabiético	11,2	11,9	8,3-16,5	10,2-13,4

1- Resultado referente a seis fábricas escandinavas.

2- Resultado referente a cinco plantas de destilação européias.

Como no caso dos ácidos graxos, a maioria das transformações químicas para os ácidos resínicos ocorre no grupo carboxílico e na olefina.

A seguir estão descritas as derivatizações mais comuns para os ácidos resínicos provenientes do CTO e suas aplicações:

2.2.2.1 - Contribuição do Grupo Carboxílico

- Esterificação: Preparação de ésteres de pentaeritritol e glicerina para a aplicação como adesivos e vernizes para uso geral, base para nitrocelulose, tintas de impressão, preparação de resinas maléicas e esmaltes brancos de baixo custo ^(56,57) (Figura 10).

⁵⁵ B. Holmbom, E. Avela, E., Alteration of Components during Technical Recovery and Refining of Crude Tall Oil,” Am. Chem. Soc. Meeting, New Orleans, 1977.

⁵⁶ G.J. Gibbs, Tall oil rosin esters report, No. 1: Glycerol and pentaerythritol esters of unmodified rosins. St. Regis Paper Co. Technical Report 031-69, 31 (1969), p. 31.

⁵⁷ Catálogo de produtos Socer Brasil, Estrada do Guarujá, 3150, bloco I – Salto – São Paulo.

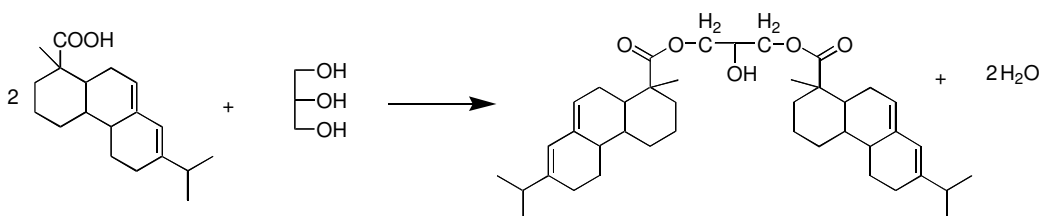


Figura 10: Síntese de ésteres de glicerínicos de ácidos resínicos provenientes do CTO.

- Formação de Sais: emulsificante para borracha sintética, nitrílica, resinas ABS e impermeabilizante para papel.⁽⁵⁸⁾
- Preparação de derivados nitrogenados: estabilizantes e plastificantes.⁽⁵⁹⁾
- Alcoxilação: produção de tensoativos não-iônicos.⁽⁶⁰⁾
- Redução para álcoois: produção de adesivos e aditivos para óleos.⁽⁶¹⁾
- Descarboxilação: lubrificantes e aditivos para tintas.⁽⁶²⁾

2.2.2.2 - Contribuição da Olefina

- Desidrogenação/Desproporcionalização: estabilização da cor dos ácidos resínicos para a produção de adesivos e base para emulsificantes de borracha sintética^(63,64,65) (Figura 11).

⁵⁸ J.R. Merino, M.L. Selas, S. Jimenez Gomez, Anal. Quim. 82 (1986) 292.

⁵⁹ S.T. Putnam, US Patent 2 787 637 (1957).

⁶⁰ W.A. Rohde, G.W. Hedrick, J. Am. Oil Chem. Soc. 47 (1970) 3.

⁶¹ H. I. Jr Enos, G.C. Harris, G.W. Hedrick, Rosin and rosin derivatives, in Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 2nd ed., 17 (1968) p. 475-508.

⁶² H.I. Waterman, J. Clausen, A.J. Tulleners, Rec. Trav. Chim., 54 (1935) 701.

⁶³ G.C. Harris, Resin and Resin Derivatives in ECT 1st ed., Hercules Powder Company, 11 (1952), p. 779-810.

⁶⁴ J. Soltes, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.), Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 262-331.

⁶⁵ Catálogo de produtos Resitec Indústria Química Ltda., Rio de Janeiro – RJ.

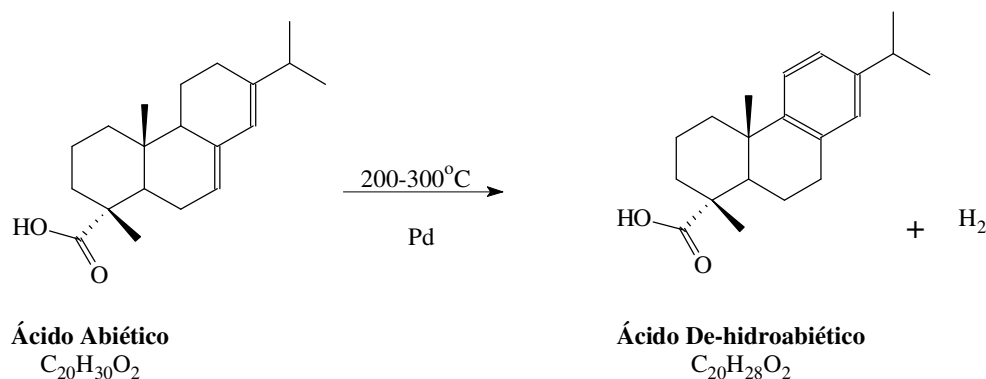


Figura 11: Desidrogenação do ácido abiético.

- Isomerização: preparação de intermediários para síntese.⁽⁶⁶⁾
- Hidrogenação: estabilização da cor dos ácidos resínicos para a produção de adesivos *Hot-Melt*.⁽⁶⁷⁾
- Dimerização: produção de poliamidas, polímeros de alta performance, adesivos, aditivos para resinas e vernizes.⁽⁶⁸⁾
- Polimerização: produção de polímeros de alta performance e blendas para plásticos.⁽⁶⁹⁾

2.2.3 – Esteróis

Os esteróis são triterpenos modificados, contendo quatro anéis e sem as metilas nos carbonos 4 e 14, em relação ao lanosterol (Figura 12).

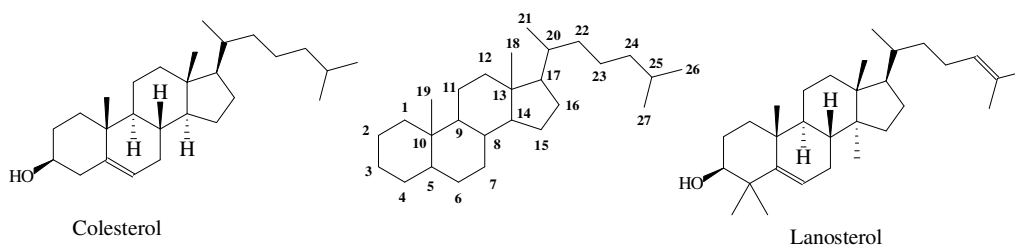


Figura 12: Estrutura do colesterol e sua numeração.

⁶⁶D.E. Baldwin, D.E. Loeblich, R.V. Lawrence, J. Am. Chem. Soc., 78 (1955) 2015.

⁶⁷B.T. Brooks, US Patent 2 094 117 (1937).

⁶⁸B.A. Parkin, W.H. Schuller, Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Develop, 12 (1973) 328.

⁶⁹A.L. Rummelsburg, US Patent 2 124 675 (1938).

O lanosterol é obtido pela ciclização do óxido de esqualeno, que é um triterpeno. Na Figura 13, são apresentados as estruturas para vários esteróis e triterpenos tetracíclicos.⁽⁷⁰⁾

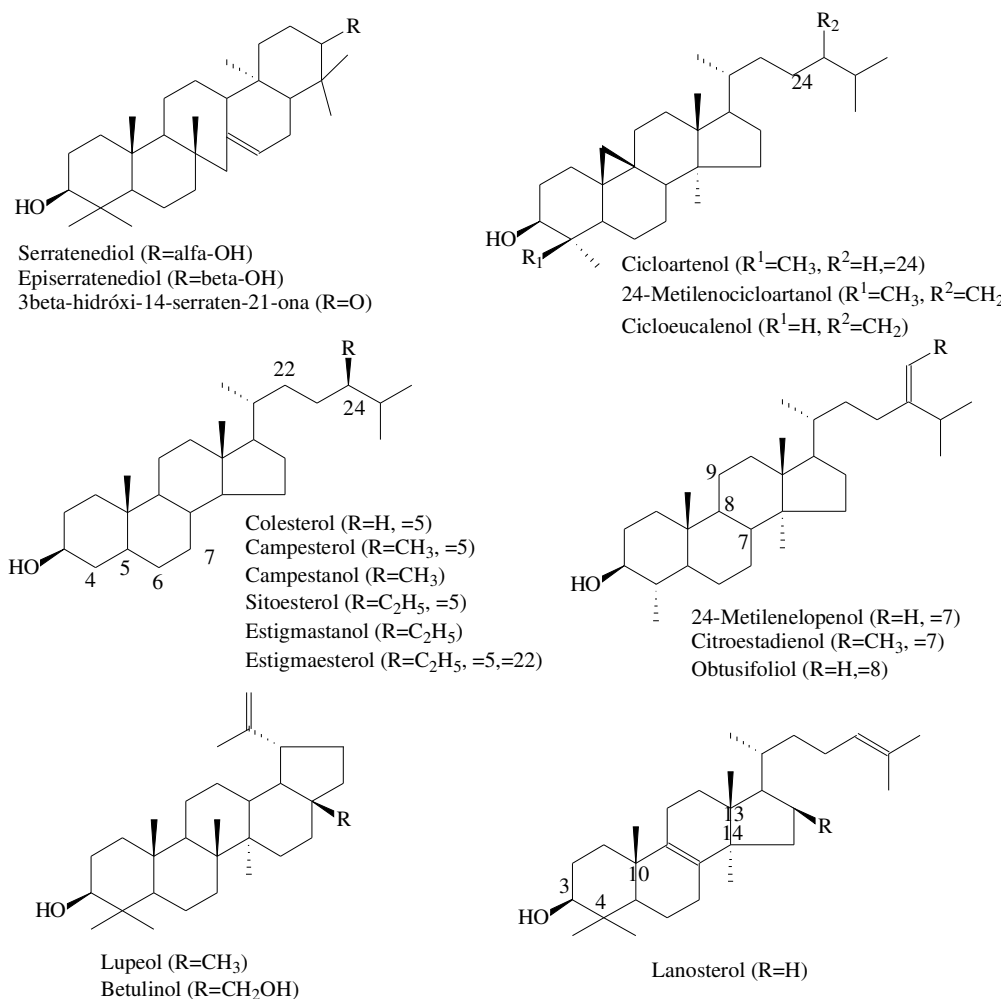


Figura 13: Estrutura de vários esteróis e triterpenos.

O principal produto da síntese de esteróis é o colesterol, que modula a fluidez e é um componente essencial da membrana citoplasmática das células animais. O colesterol é o precursor de sais biliares, que facilitam a digestão de gorduras, da vitamina D, que estimula a captação de cálcio pelos intestinos, e

⁷⁰ A.H. Conner, Chemistry of Other Components in Naval Stores, Naval Stores Production Chemistry and Utilization, D. F. Zinkel e J. Russel (Eds.), Pulp Chemicals Association Inc., 1989, p. 440-473.

hormônios esteróides, tais como testosterona, estradiol e esteróis, que controlam o equilíbrio salino.⁽⁷¹⁾

O colesterol é muito comum em células animais. Já nas células vegetais, os esteróis mais comuns (fitoesteróis) são o sitosterol, o estigmasterol e o campesterol. O fitoesterol mais abundante nas espécies de *Pinus* é o β -sitosterol.⁽⁷²⁾

Atualmente, a maior fonte de fitoesteróis são os óleos vegetais que contêm entre 100 e 500 mg de esteróis por 100g ⁽⁷³⁾, sendo os componentes mais comuns o β -sitosterol, estigmasterol e campesterol. A Tabela 7 mostra a composição em fitoesteróis de alguns óleos vegetais.

Tabela 7: Composição da fração de esteróis (%) de óleos vegetais.⁽⁷³⁾

Óleo	Fração Esterólica (%)	Colesterol (%)	Campesterol (%)	Estigmaesterol (%)	Beta-Sitoesterol (%)	Avenasterol (%)
Algodão	0,35	Traços	9,2	2,5	88,2	Traços
Amendoim	0,25	-	12,8	10,8	74,6	-
Milho	0,9	-	22,1	7,2	62,2	3,5
Colza	0,84	0,8	29,4	-	54,9	5,7
Oliva	0,16	Traços	3,9	2,1	85,4	8,6
Soja	0,37	Traços	21,3	19,1	53,5	2,4

Atualmente, a maior fonte natural de fitoesterol no mundo é o destilado de desodorização do óleo de soja (DDOS). Este produto natural bruto é constituído de uma mistura de fitoesteróis, tocoferol e ácidos graxos.

Os fitoesteróis têm sido utilizados em cosméticos, na síntese de espirolactona, hidrocortisona e hormônios,⁽⁷⁴⁾ na síntese da 4-hidroxiandrosten-3,17-diona para o tratamento de câncer,⁽⁷⁵⁾ etc. Contudo, a sua maior demanda

⁷¹ H.D. Belitz, W. Grosch, Unsaponifiable constituents Food Chemistry, Berlin: Springer-Verlag, 1987, p. 182-197.

⁷² A.H. Conner, J.W. Rowe, J. Am. Oil Chem. Soc., 52 (1975) 334.

⁷³ N.L. Facioli, Tese de Doutorado do Departamento de Tecnologia de Alimentos da Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas, Dezembro (2000).

⁷⁴ F. Zinkel, Turpentine, rosin, and fatty acids from conifers. In Organic Chemicals from Biomass, I.S. Goldestein (Ed.). CRC press, Boca Raton, Florida, 1981, p. 163-187.

⁷⁵ R.C. Coobes, P.E. Gross, M. Dowssett, G. Hutchinson, D. Cunningham, M. Jarnan. e A.M.H. Brodie, Steroids, 50 (1987), p. 245-252.

atual é para tratar casos de hipercolesterolemia.⁽⁷⁶⁾ Têm-se observado em inúmeros trabalhos de investigação que os fitoesteróis, como o β -sitosterol e a sua forma saturada β -sitostanol, diminuem o nível de colesterol no sangue através da redução da absorção do colesterol endógeno e do colesterol absorvido através da dieta alimentar. Aparentemente, os fitoesteróis atuam como inibidores da absorção intestinal do colesterol,⁽⁷⁷⁾ diminuindo os teores desses na corrente sanguínea.

O β -sitostanol é mais eficiente na redução do colesterol total e LDL-colesterol que o β -sitosterol ⁽⁷⁸⁾. Os fitoesteróis cíclicos saturados aparentemente não são absorvidos no intestino.

Os fitoesteróis também são úteis em estudos clínicos, por serem endógenos (não sintetizados por humanos) e indicadores da absorção e síntese de colesterol.⁽⁷⁹⁾

Os fitoesteróis são os maiores constituintes da fração insaponificável do CTO,⁽⁸⁰⁾ e se apresentam principalmente como esteróis livres e como ésteres de esteróis com ácidos graxos.

2.3 - Histórico para o processamento do CTO

O refino do CTO teve início, na Europa, no começo do século XX, nos Estados Unidos, na década de 1930 e no Brasil, na década de 1970. Vários processos rudimentares de destilação foram implementados e somente sobrevivem quando o produtor processa quantidades limitadas de produto.

Esse desenvolvimento inicial para o refino do CTO foi bem documentado por Drew ^(81,82,83), e uma descrição bem detalhada destes processos foi efetuada por Sandermann.⁽⁸⁴⁾

⁷⁶ A.M. Lees, H.Y.J. Mok, R.S. Lees, M.A. McCluskey, S.M. Grundy, *Atherosclerosis*, 28 (3) (1977), p. 325-327.

⁷⁷ B.J. Kudghodkar, L. Horlich, H.S. Sodhi, *Atherosclerosis*, 21 (1) (1976), p. 29-21.

⁷⁸ T. Heinemann, G. Axtmann, K. Von Bergamann, *Europ. J. of Clin. Invest.*, 23 (8) (1993), p. 827-830.

⁷⁹ C.J. Glueck, J. Speirs, T. Tracy, P. Streicher, E. Illig, J. Vandergrift, *Metabolism*, 40 (8) (1991), p. 842-848.

⁸⁰ A.H. Conner, J.W. Rpw, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 52 (1975) 334.

⁸¹ J. Drew, *Naval Stores Rev.*, 94 (3), (1983) 4.

⁸² J. Drew, M. Propst (Eds.), *Tall Oil, Pulp Chemicals Assoc.*, New York, 1981.

O primeiro processo de destilação para o CTO foi patenteado por Bergstron e Lindquist, na Suécia, e por Hellstrom, na Finlândia. O processo em batelada foi colocado em operação, em 1920, por Enzo-Gutzeit.

Bjorkgren patenteou o primeiro processo de separação contínuo para o CTO, em 1927,⁽⁸¹⁾ no qual os materiais voláteis do CTO eram separados do pitch na presença de vapor superaquecido, sendo esse fracionado em uma ou mais colunas sem prévia condensação.

Um grande número de processos contínuos e semi-contínuos de fracionamento do CTO foram patenteados na década de 1930 e início da década de 1940.

Uma compilação bibliográfica efetuada pela *American Pulp Chemicals Association*, em 1959, lista mais de 1600 referências relacionadas ao CTO e aos seus processos de separação/purificação.⁽⁸⁵⁾

Na maioria dos processos descritos, o refino é feito através de outros métodos, além da destilação. Esses métodos incluem o refino ácido, extração por solventes, adsorção, esterificação seletiva, saponificação seletiva, tratamento químicos, tratamento térmico e craqueamento parcial dos compostos presentes no CTO. Contudo, a destilação demonstrou ser o único processo com significado comercial para o refino do CTO.

Em 1936, Westvaco e Covinton foram os primeiros a implementar o processo contínuo para a destilação do CTO nos Estados Unidos.

Neste processo, o CTO é aquecido de 300 a 350°C e a matéria vaporizada é centrifugada e destilada em um *Thin film*, ocorrendo a separação da fração volátil (DTO) da não-volátil (*Pitch*); posteriormente o material é condensado em condensadores em série. O destilado resfriado é cristalizado e a água-mãe é redestilada da mesma maneira que o CTO.

Em 1942, Amour Co. iniciou sua planta de fracionamento em Chicago, utilizando o processo Potts e obtendo no topo da coluna a fração graxa do CTO

⁸³ J. Drew, Tall Oil Processing, Am. Oil Chem. Soc. Tall Oil Symposium, 1977.

⁸⁴ W. Sanderman, Naturharze Terpentinol – Tallol Chemie und Technologie,” Springer Verlag, Berlin/Gottingen/Heidelberg, 1960, 316-344.

⁸⁵ J. Weiner, Tall Oil, Bibliographic series number 133-135, The institute of paper chemistry, 1959.

(TOFA), contendo aproximadamente 6 a 12% de ácidos resínicos como contaminante.

General Mills Co. iniciou o funcionamento de sua planta de separação para o CTO em 1948, utilizando o mesmo princípio da planta Armour (destilação contínua). Essa planta produzia uma fração de ácidos graxos com apenas 1 a 3% de ácidos resínicos e 1 a 2% de material insaponificável; contudo, não conseguia produzir uma fração de ácidos resínicos contendo menos de 20% de ácidos graxos.

Em 1949, Arizona Chemical Co. implementou, na cidade do Panamá, o primeiro processo bem-sucedido para a produção de ácidos graxos e ácidos resínicos com alta pureza.⁽⁸⁾ Nesse processo foi possível obter TOFA e Breu com menos de 2% de contaminantes. Nesse processo, o CTO pré-tratado é vaporizado na presença de vapor superaquecido e os produtos voláteis são separados do *Pitch* com evaporador do tipo *Thin film*. Os ácidos graxos brutos são purificados em uma segunda coluna de destilação. Esta separação (*two-pass-system*), com pequenas modificações, é tipo utilizado atualmente por inúmeras plantas de processamento de CTO.

Um novo processo foi desenvolvido, em 1969, por Luwa *et al*.⁽⁸¹⁾, onde o CTO é fracionado em um evaporador do tipo *Thin Film*. O sistema trabalha a baixa pressão e alta temperatura (360 °C). O CTO é adicionado primeiramente ao evaporador, sem pré-aquecimento, e a água e os compostos mais leves são destilados em um pré-corte. O óleo seco é bombeado para um outro evaporador, onde um *pitch* com baixo índice de acidez é separado dos ácidos graxos e ácidos resínicos. Posteriormente, a mistura de ácidos graxos e resínicos é separada e purificada em várias colunas de destilação.

A utilização do evaporador do tipo *Thin Film* aumentou consideravelmente os rendimentos e a qualidade dos produtos.

Nos últimos 25 anos, o processamento do CTO, nos EUA, passou de 25.000 ton/ano, provenientes da planta da Arizona Chemicals, para mais de 15 plantas e aproximadamente 1 milhão de ton/ano em 1989.⁽⁸⁵⁾

2.4 – Processos de Separação

Nas etapas de purificação e/ou concentração de compostos, os processos mais comumente utilizados são: extração líquido-líquido, cristalização, adsorção, extração sólido-líquido, destilação e fracionamento com uréia ⁽⁸⁶⁾ Atualmente, a destilação convencional é um dos processos de separação mais utilizados na indústria.

2.4.1 - Destilação

A destilação é a técnica de separação mais utilizada para a purificação e o fracionamento dos ácidos graxos, ácidos resínicos e material insaponificável presentes no CTO.

Na destilação, diferentemente do processo de evaporação, o vapor é formado no seio do líquido em forma de bolhas, pelo calor cedido através do aquecimento. Esse aquecimento pode ser efetuado através de vapor superaquecido ou de óleo térmico aquecido. Após a vaporização, o material é fracionado sob vácuo (2-5 *mbar*) em uma coluna de destilação, que pode conter bandejas (pratos) ou ser empacotadas, como descritos na Figura 14.

⁸⁶ F.D. Gustone, M. Kates, J.L., Harwood, The Lipid Handbook, Chapman & Hall, 2^{ed}, London, 1994, p.225.

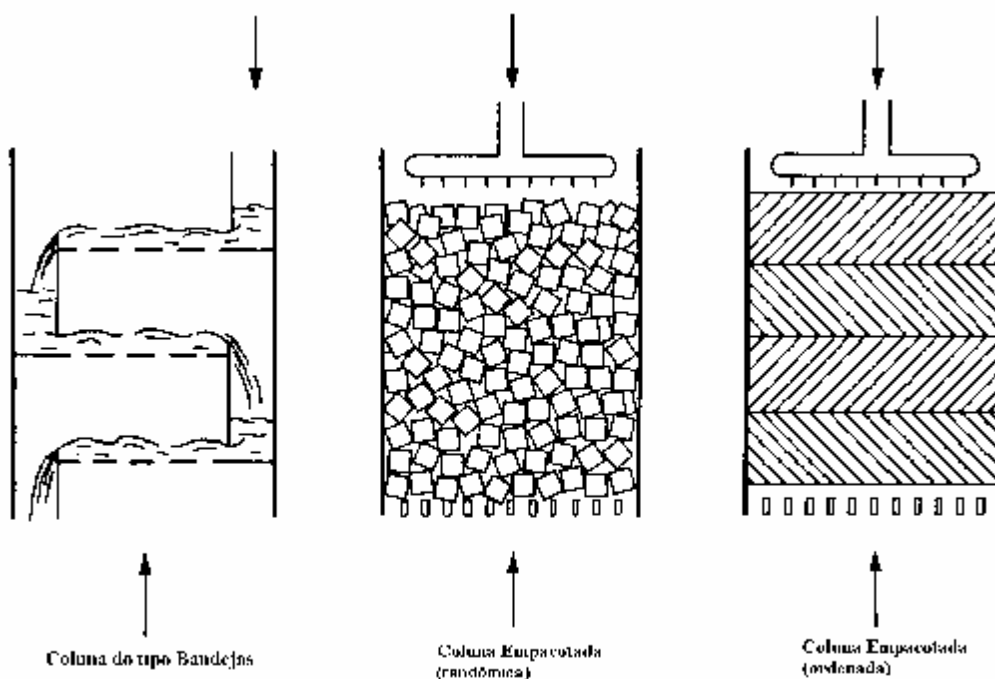


Figura 14: Materiais de enchimento interno de colunas de destilação.⁽⁸⁷⁾

A performance da coluna de fracionamento depende da pressão interna da coluna, do número e do tipo de bandejas/pratos ou do tipo de material de enchimento.

Além de promover uma melhora considerável na capacidade de fracionamento da coluna, estes materiais permitem manter baixa pressão interna na coluna. Isso facilita o processo de fracionamento e diminui o tempo de residência do material na base da coluna à alta temperatura, evitando a sua degradação térmica.

A tecnologia para o fracionamento de materiais graxos avançou rapidamente após a Segunda Guerra Mundial. Algumas empresas, como a Henkel, desenvolveram os seus próprios processos de separação. Nos Estados

⁸⁷ G. Dieckelmann, H.J. Heinz, The Basics of Industrial Oleochemistry, Peter Pomp (Ed.) GmbH, D-4300 Essen, 1988.

Unidos, R.A Potts e P.B. White ⁽⁸⁸⁾, e na Alemanha, H. Stage, ⁽⁸⁹⁾ foram os pioneiros nestes processo de otimização.

A destilação dos materiais pode ocorrer através de reatores em batelada ou processo contínuo, sendo que, atualmente, o processo contínuo é o mais utilizado.⁽⁸⁷⁾

2.4.2 – Evaporador *Thin Film*

O evaporador do tipo *Thin Film* é composto por um rotor, que distribui o material a ser fracionado em uma tênue camada dentro de um tubo com uma jaqueta de aquecimento, como descrito na Figura 15.

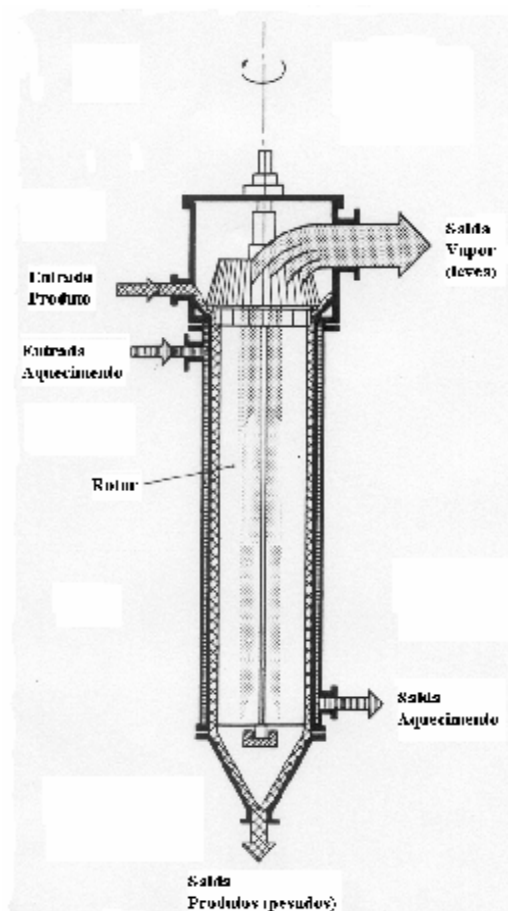


Figura 15: Evaporador *Thin Film*.⁽⁸⁷⁾

⁸⁸ R.A. Potts e F.b. White, J. Am. Oil Chem. Soc., 30 (1953) 49.

⁸⁹ H. Stage, J.Am. Oil Chem. Soc., 61 (1984) 204.

Os compostos mais voláteis são condensados no topo do sistema, e os compostos mais pesados são separados no fundo.

A vantagem deste tipo de sistema é o baixo tempo de residência dos compostos à alta temperatura. Desta maneira, é possível evitar a degradação térmica das substâncias desejadas (como os fitoesteróis).⁽⁸⁷⁾

2.5 - Obtenção de Concentrados de Esteróis

Uma patente para a recuperação de sitoesteróis provenientes do CTO foi desenvolvida por Harada e Yumato ⁽⁹⁰⁾. Nessa patente, o sabão de *Tall Oil* é processado utilizando-se dois evaporadores do tipo *Thin-Film*. Um outro processo para a produção de sitoesterol proveniente do CTO foi patenteado na Finlândia, em 1976.⁽⁹¹⁾

A Badger Company Inc. patenteou, em 1985, um processo para a obtenção de ácidos graxos e esteróis provenientes do *pitch* do *Tall Oil*. O processo se baseia em uma hidrólise dos ácidos graxos e dos ésteres de esterois presentes no *pitch* e o seu posterior fracionamento e purificação por destilação.⁽⁹²⁾

A Westvaco desenvolveu um processo para o isolamento e a purificação dos esteróis presentes no *pitch* do *Tall Oil*, através de uma extração por solventes (heptano e metanol); contudo, o rendimento obtido para o processo não foi satisfatório.⁽⁹³⁾

Barder patenteou um processo para a concentração de esteróis provenientes de resíduos contendo baixo teor de ácidos carboxílicos livres. O sistema se baseia na separação por adsorção dos esteróis em silicato de magnésio, utilizando-se o metil-terc-butil éter como solvente. A desvantagem desse método é que o mesmo só é aplicável para compostos que apresentem baixo teor de ácidos carboxílicos livres.⁽⁹⁴⁾

⁹⁰ T. Harada, T. Yumato, US Patent 3 887 537 (1975), 4 076 700 (1978).

⁹¹ B. Holmbom, E. Avelã, US Patent 3 965 085 (1976).

⁹² R.E. Hughes, US Patent 4 524 024 (1985).

⁹³ R.S. Vicente, Patent Cooperation Treaty, PCT/US99/14134, (1999).

⁹⁴ T.J. Barder, A.W. Bedwell e S.P. Johnson, US Patent 4 977 243 (1990).

Nogueira estudou a separação dos ácidos graxos e ácidos resínicos presentes no CTO, utilizando um método por extração com n-heptano; contudo, este método tem como desvantagem a utilização de altos volumes de solvente orgânico no processo.^(95,96)

A Arizona Chemical Corporation (Estados Unidos) patenteou, em 2000, um processo para a separação de esteróis provenientes do CTO. Nesse processo, o CTO é destilado à baixa temperatura (abaixo de 290 °C), minimizando a degradação térmica e a esterificação dos esteróis e aumentando em 50 % o teor de esterol no *pitch*. O resíduo de destilação é posteriormente saponificado com hidróxido de sódio e hidróxido de potássio, e o material insaponificável contendo os esteróis é destilado. Contudo, mesmo à baixa temperatura de destilação, uma grande parte dos esteróis sofre degradação térmica.⁽⁹⁷⁾

A Resitec Indústria Química Ltda. (Resende-Rio de Janeiro-Brasil) patenteou, em 2002, um processo para a purificação e extração de esteróis e vitaminas provenientes de resíduos de processos industriais, dentre eles o *pitch* de *Tall Oil*. Nesse processo, o material graxo é transformado em sabão de cálcio e magnésio, sendo o material insaponificável posteriormente destilado.⁽⁹⁸⁾ A desvantagem desse processo é a grande quantidade de sais de cálcio e magnésio, produzidos como subprodutos.

Recentemente, um novo processo para a separação de esteróis provenientes do CTO foi patenteado pela Arizona Chemical Company (Estados Unidos). Nesse novo processo, o sistema de destilação foi modificado, utilizando-se colunas de alta eficiência para concentrar e minimizar a degradação dos esteróis.⁽⁹⁹⁾

Hunt e Schwarzer⁽¹⁰⁰⁾ desenvolveram um processo de esterificação química para a concentração dos esteróis e tocoferóis presentes no destilado de desodorização do óleo de soja (DDOS). O método é baseado na produção de

⁹⁵ J.M.F. Nogueira, Sep. Scien. and Tech., 31 (19), (1996), p. 2685-2703.

⁹⁶ J.M.F. Nogueira, Sep. Scien. and Tech., 32 (17), (1997), p. 2807-2820.

⁹⁷ D.T.A. Hulbers, A.M. Robbins e D.H. Sullivan, US Patent 6 107 456 (2000).

⁹⁸ R. Rohr e J.A. Trujillo-Quijano, US Patent 6 344 573 (2002).

⁹⁹ D.T.A. Hulbers, A.M. Robbins e D.H. Sullivan, US Patent 6 414 111 (2002).

¹⁰⁰ T.K. Hunt, J. Schwarzer, US Patent 5 703 252 (1997).

ésteres metílicos a partir da transesterificação e esterificação do material graxo presente no DDOS.

Ghosh & Bhattacharyya⁽¹⁰¹⁾ isolaram tocoferóis e esteróis como um concentrado a partir do destilado de desodorização do óleo de girassol. A tecnologia empregada envolvia bio-hidrólise, bioesterificação e destilação fracionada convencional. Os glicerídeos neutros do material (46,3 %) foram hidrolisados pela lipase da *Candida cylindracea* e, em seguida, os ácidos graxos livres totais foram esterificados e convertidos a ésteres butílicos, em reação catalisada pela lipase do *Mucor miehei*. O produto esterificado foi então fracionado por destilação simples a vácuo.

Nenhum dos processos anteriormente citados prevê a esterificação seletiva dos ácidos graxos presentes no CTO para a separação dos ácidos resínicos e a obtenção de concentrados de estero.

2.6 – Esterificação

Os ésteres metílicos apresentam pontos de ebulição mais baixos do que os seus respectivos ácidos, necessitando de uma energia menor para serem destilados, como mostrado na Tabela 8.

Tabela 8: Comparação entre os pontos de ebulição de alguns ácidos graxos e os seus respectivos ésteres metílicos.

Grupo Alquil	Ponto de Ebulição a 10mmHg	
	Ácido Graxo	Éster Metílico
Caprico C-10	150	108
Laurico C-12	172	133
Mirístico C-14	192	161
Palmítico C-16	212	184
Esteárico C-18	227	205
Behénico C-22	263	240
Oleico C-18:1	223	201
Linoléico C-18:2	224	200
Linoénico C-18:3	224	202

¹⁰¹ S. Ghosh e D.K Bhattacharyya, J. Am. Chem. Soc., 73 (10), (1996) p. 1271-1274.

Assim, empregando esterificação química ou enzimática, torna-se possível utilizar condições mais brandas de temperatura e pressão para a destilação do CTO, preservando melhor os compostos de interesse, além de se facilitar a separação dos esteróis.

2.6.1 - Esterificação Química

O processo clássico para a produção de ésteres é através da catálise ácida, na qual normalmente utiliza-se um ácido de Brönsted como catalisador (ex. ácido clorídrico, sulfúrico ou p-toluenosulfônico). No caso dos álcoois com baixo ponto de ebulição, ocorre a dissolução de parte da água produzida no meio reacional, sendo necessária a remoção dessa e a realização de uma segunda adição de álcool, pois a reação entrará em equilíbrio. O resíduo de ácido graxo e do catalisador pode ser removido através de um tratamento alcalino. O mecanismo para esse processo catalítico é apresentado na Figura 16.

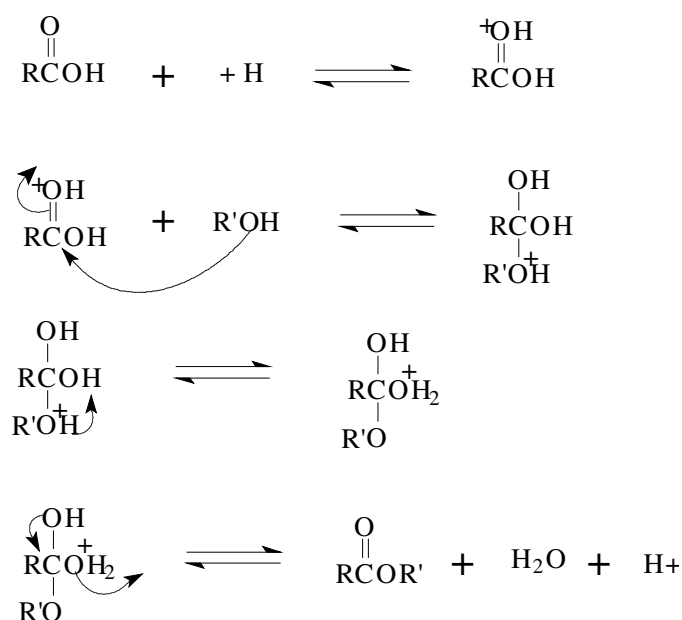


Figura 16: Mecanismo de Esterificação Química.¹⁰²

¹⁰² F. A. Carey e R. J. Sunberg, Advanced Organic Chemistry, Fourth Edition, Part A: Structure and Mechanisms, 2000, p.475.

Na preparação de ésteres via catálise química são necessárias condições drásticas de pressão e temperatura. Também é necessário utilizar um grande excesso estequiométrico do álcool em relação ao ácido.

2.6.2 - Esterificação enzimática

Apesar da ação das enzimas ter sido reconhecida e os biocatalisadores terem sido empiricamente utilizados pelo homem há milênios, o interesse científico que conduziu à sua identificação é relativamente recente, tendo se iniciado em meados do século passado. No mesmo período, aprofundaram-se os conhecimentos sobre o metabolismo, a química orgânica e a química das proteínas, que contribuíram para o desenvolvimento da enzimologia e da tecnologia enzimática.⁽¹⁰³⁾

As enzimas, conhecidas industrialmente como biocatalisadores, são proteínas, isto é, macromoléculas (com massa molecular elevada, entre 15.000 e 20.000.000 g/mol) formadas a partir de aminoácidos. Elas estão presentes em todas as células vivas, onde exercem as funções vitais de controle de processos de transformação dos nutrientes em energia e em material celular. Algumas das enzimas mais conhecidas são encontradas no sistema digestivo, como a pepsina e a tripsina, que convertem proteínas em aminoácidos, as lipases, que degradam gorduras a glicerol e ácidos graxos; e as amilases, que quebram o amido, da farinha e da batata, por exemplo a açúcares mais simples.⁽¹⁰³⁾

As enzimas são catalisadores altamente seletivos e esta seletividade é decorrência da interação da enzima com o substrato. Esta interação seletiva é explicada através do modelo chave-fechadura, esquematizado na Figura 17.

¹⁰³ E.P.S. Bon e N. Pereira (Ed.), *Tecnologia Enzimática*, Universidade Federal do Rio de Janeiro, 1999.

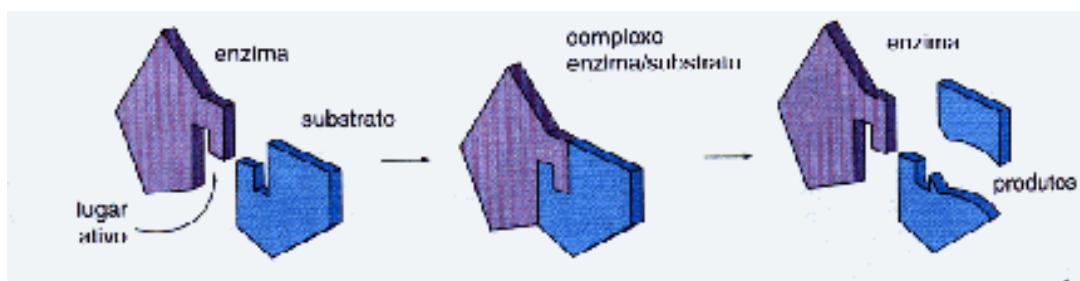


Figura 17: Ação catalítica das enzimas (modelo chave-fechadura).

Neste modelo, a ligação do substrato ao centro ativo da enzima se dá preferencialmente por uma das faces do substrato, o que explica a alta seletividade da catálise enzimática.⁽¹⁰⁴⁾

A descoberta de que as lipases e outras enzimas podem ser utilizadas em meio a solventes orgânicos,^(105,106) e também em catálise em fase sólida⁽¹⁰⁷⁾, abriu uma gama enorme de novas aplicações para estes biocatalisadores.

2.6.2.1 – Reações hidrolíticas

Dentre todos os tipos de reações catalisadas por enzimas, as transformações hidrolíticas (hidrólise, amonólise e alcóolise), envolvendo proteases, estearases ou lipases como catalisador, são as mais difundidas. Aproximadamente, 2/3 de toda a pesquisa feita até o momento em biotransformações catalisadas por enzimas envolve esta classe de reações.⁽²⁾

O mecanismo para a hidrólise enzimática de ésteres e amidas é muito similar ao mecanismo químico. Um grupo nucleófilo proveniente do sítio ativo da enzima ataca a carbonila do substrato, formando um intermediário acil-enzima, que posteriormente sofre um ataque de um outro nucleófilo, como água, metanol, amina, etc.⁽¹⁰⁸⁾

¹⁰⁴ E. Fischer, Ber. Dtsch. Chem. Ges., 27 (1894) 359.

¹⁰⁵ P.J. Halling, Curr. Opin. Chem. Biol., 4 (2000) 74.

¹⁰⁶ A. Zaks, A.M. Klivanov, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 82 (1985) 3192.

¹⁰⁷ R.V. Ulijn, Biotechnol. Bioeng., 80 (2002) 509.

¹⁰⁸ K. Faber, Biotransformations in Organic Chemistry, Fourth Completely Revised e Extended Edition, Springer, 2000, p. 30-159.

O grupo nucleófilo proveniente do sítio ativo da enzima pode ser a hidroxila do aminoácido serina, o grupo carboxílico do ácido aspártico ou o tiol da cisteína.

O mecanismo que foi até o momento elucidado em detalhes foi o da serina hidrolase, que tem a serina como nucleófilo da enzima. ^(108,109,110) Este mecanismo está mostrado na Figura 18.

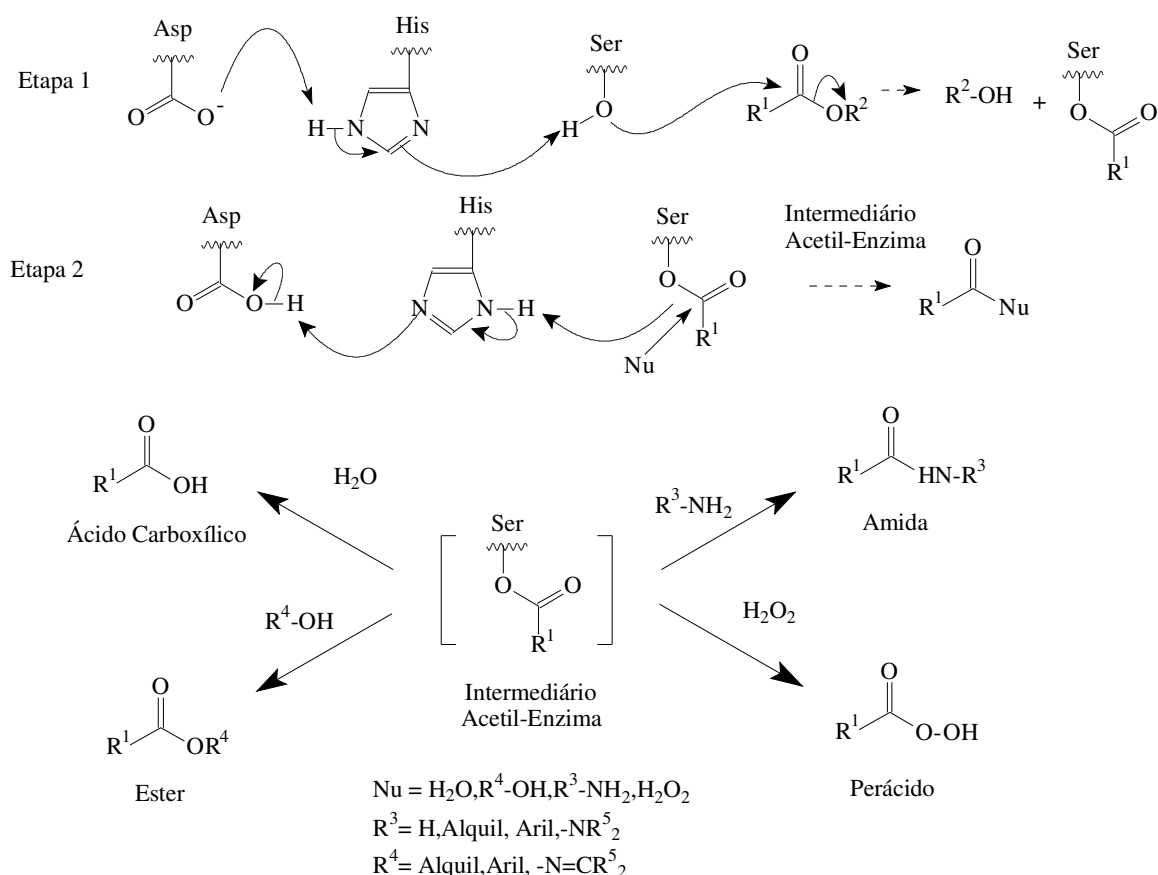


Figura 18: Mecanismo de atuação da Serina Hidrolase. ⁽¹⁰⁸⁾

Dois outros aminoácidos presentes no sítio ativo da enzima, o ácido aspártico e a histidina, formam junto com a serina o assim denominado trio catalítico nas hidrolases. ^(111,112)

¹⁰⁹ R.J. Kazlauskas, H.K. Weber, Curr. Opin.. Chem. Biol., 2 (1998) 121.

¹¹⁰ J.B. Jones, J.F. Beck, Asymmetric Syntheses and Resolutions using Enzymes, Wiley, New York, part I, (1976), p. 107.

O arranjo especial destes três grupos de aminoácidos diminui o valor do pK_a do grupo hidroxila da serina, o que facilita a formação do alcóxido, que promove o ataque catalítico à carbonila do substrato, formando o intermediário acetil-enzima (Etapa 1). Esses intermediários sofrem ataque nucleofílico, regenerando a enzima e formando o produto final da catálise enzimática, como ácido, ésteres ou amidas.

2.6.2.2 – Lipases

As lipases estão presentes em diversos organismos, incluindo animais evoluídos, plantas, fungos e bactérias, são enzimas cuja função biológica é a de catalisar a hidrólise de lipídeos, com a subsequente liberação de ácidos graxos livres, diacilglicerídeos, monoacilglicerídeos e glicerol livre.

A sua atividade é muito aumentada quando situada na interface polar/apolar e apresenta maior afinidade por ácidos graxos de cadeia longa. A teoria atualmente mais aceita para este fenômeno diz que uma parte da superfície da enzima se encontra em melhor equilíbrio termodinâmico quando inserida na interface polar/apolare que esta conformação coloca o sítio ativo da enzima em posição favorável para a catálise. ⁽¹¹³⁾

Estas enzimas podem também atuar como catalisadores de reações de acidólise, aminólise, interesterificação e, principalmente, de esterificação e transesterificação, quando o teor de água no meio reacional é reduzido.

As lipases podem ser encontradas em células de tecidos animais e vegetais e podem ainda ser produzidas por microrganismos. Do ponto de vista industrial, a produção por microrganismos é considerada de maior importância devido ao seu maior potencial de produção em larga escala.

Como biocatalisadores, apresentam vantagens importantes sobre os catalisadores clássicos, como a especificidade, a regioseletividade e a

¹¹¹ L. Brady, A.M. Brzozowski, Z.S. Derewenda, E. Dodson, G. Dodson, S. Tolley, J.P. Turkenburg, L. Christiansen, B. Huge-Jensen, L. Norskov, L. Thim, U. Menge, Nature, 343 (1990) 767.

¹¹² J.D. Schrag, Y. Li, S. Wu, M. Cygler, Nature, 353 (1991) 761.

¹¹³ B. Borgston e H.L. Brockman, Lipases, Elsevier. Amsterdam (1984).

enantiosseletividade, que permitem reduzir o número de co-produtos, a redução de custo no tratamento de resíduos e a operação sob condições mais brandas de temperatura e pressão.⁽¹¹⁴⁾

2.6.2.3 – Catálise Enzimática Homogênea (Batelada)

Existem inúmeros trabalhos na literatura que descrevem a catálise enzimática homogênea para a produção de ésteres de material graxo.

Trabalhos recentes reportam a síntese de ésteres terpênicos de ácidos monocarboxílicos, envolvendo catálise enzimática como a transesterificação^(115,116) e a esterificação direta^(117,118).

Foi recentemente reportado por Myojo *et al*⁽¹¹⁹⁾ a preparação de ésteres de esterol com ácidos graxos de cadeia longa. Em outro trabalho recente, Shimada *et al*⁽¹²⁰⁾ associaram as propriedades dos esteróis com ácidos graxos polinsaturados (AGP), que têm sido muito utilizados devido a suas atividades benéfica em organismos vivos.

Observou-se também que a atividade catalítica e a seletividade dependem fortemente da temperatura, do tamanho da cadeia do ácido graxo e do tipo de solvente utilizado.

Recentemente, Ramamurthi *et al*⁽¹²¹⁾ e Facioli⁽⁷³⁾ estudaram a obtenção de concentrado de tocoferóis/esteróis a partir do destilado de desodorização do óleo de canola e do destilado de desodorização do óleo de soja, empregando um processo enzimático, no qual os ácidos graxos livres foram convertidos a ésteres metílicos pela ação de lipases. Em seguida, os tocoferóis e esteróis foram concentrados na fração residual, por destilação molecular dos ésteres metílicos e de outras frações voláteis.

¹¹⁴ B.E. Saad, M.L. Fernandes, N. Krieger, D.A. Michell e L.P. Ramos, Biodiesel, (2005).

¹¹⁵ C.J. Gray, J.S. Narang, S.A. Barker, *Enz. Microb. Technol.*, 12 (1990) 800.

¹¹⁶ P.A. Claon e C.C. Akoh, *J. Agric. Food Chem.*, 42 (1994) 2349.

¹¹⁷ P.A. Claon e C.C. Akoh, *Biotechnol. Lett.*, 15 (1993) 1216.

¹¹⁸ S. Okumura, M. Iwai e Y. Tsujisaka, *Biochim. Biophys. Acta*, 575 (1979) 156.

¹¹⁹ K. Myojo e Y. Matsufune, *Yukagaku*, 44 (1995) 883.

¹²⁰ Y. Shimada, Y. Hirota, T. Baba, A. Sugihara, S. Moriyama, Y. Tominaga e T. Terai, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 76 (1999) 713.

¹²¹ S. Ramamurthi, P.R. Bhirud e A.R. McCurdy, *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 68 (1991) 970.

Taylor e King ⁽¹²²⁾ desenvolveram uma nova metodologia analítica para o CTO, utilizando uma extração por fluido supercrítico e a esterificação seletiva dos ácidos graxos presentes no *Tall Oil*.

2.6.2.4 – Catálise Enzimática Heterogênea (Processo Contínuo).

A catálise enzimática heterogênea começou a ser estudada no início do século XX, ao se observar que o carvão ativo ao qual havia sido adicionada uma preparação biológica com atividade invertásica mantinha a capacidade de hidrolisar sacarose mesmo após ser lavada. Após essa observação da imobilização de enzimas em suportes insolúveis, o assunto só foi novamente retomado após a Segunda Guerra Mundial.⁽¹⁰³⁾

Em 1948, o bioquímico americano James Batcheller Sumner (1887-1955), ganhador do Prêmio Nobel de Química em 1946, reportou a imobilização de uma enzima. Na continuação dos estudos, pesquisadores alemães, demonstraram em 1954, que polímeros sintéticos como resinas diazotadas de poliaminoestireno, poderiam ser usados para imobilizar proteínas com atividade biológica, imobilizando as enzimas pepsina, diástase, ribonuclease e carboxipeptidase.⁽¹⁰³⁾

Outros trabalhos pioneiros subseqüentes incluíram a imobilização de catalase por ligação iônica em DEAE-celulose, tripsina, papaína, amilase e ribonuclease em gel de polacrilamida, e a demonstração do método de ligações cruzadas, utilizando-se carboxipeptidase com glutaraldeído.⁽¹⁰³⁾

A microencapsulação da anidrase carbônica foi descrita em 1964, e a preparação de lipossomas contendo glicoamilase, em 1971, sendo essas duas últimas preparações usadas com fins terapêuticos.

A partir de 1960, houve um aumento muito grande no número de publicações sobre imobilização enzimática, tendo em vista as potenciais vantagens econômicas e operacionais que a técnica oferece. Estes esforços resultaram no desenvolvimento, em 1969, por Chibata *et al* ⁽¹⁰³⁾ da companhia japonesa Tanabe Seiyaku Co. (Japão), de um processo para a produção de L-

¹²² S.L. Taylor e J.W. King, J. Chrom. Sci, 39,(2001).

aminoácidos, a partir de misturas racêmicas, usando L-aminoacilase imobilizada em DEAE-Sephadex.

Quase simultaneamente, foi colocado em operação, nos EUA, o processo de produção de xaropes de frutose a partir de amido de milho, utilizando glicose isomerase imobilizada.

Em trabalho recente, Kurokawa *et al*⁽¹²³⁾ descreveram o desenvolvimento de um novo suporte, à base de uma fibra de acetato de celulose e TiO₂ para a lipase proveniente da *Candida antarctica* utilizada na síntese de acetatos de geraniol.

Em outro trabalho, Chen *et al*⁽¹²⁴⁾ descrevem o desenvolvimento de um outro tipo de suporte à base de Sol-Gel para a mesma enzima, utilizado na síntese do mesmo composto. Abbas *et al*⁽¹²⁵⁾ imobilizaram a mesma enzima em um suporte orgânico, uma resina comercial AMBERLIT 1RC 50. Após a heterogeneização da lipase, a mesma foi testada na esterificação do geraniol e do citrônolol.

A importância de processos industriais com enzimas imobilizadas motivou a organização, em 1971, da Primeira Conferência em Engenharia Enzimática. Nela, estabeleceu-se o uso da terminologia enzima imobilizada para os biocatalisadores ligados a suportes insolúveis ou confinados a espaços físicos definidos, em contraposição ao uso de enzimas “fixadas” ou “insolubilizadas” ou “ligadas a matrizes”.

Os principais usos em escala industrial incluem a produção de milhões de toneladas de xaropes de frutose (HFCS) em bio-reatores, que operam por 1000 a 2000 horas seguidas com um rendimento de 2000 a 4000 kg/kg de enzima. Milhares de toneladas dessa enzima imobilizada são produzidas por quase uma dezena de empresas espalhadas pelo mundo.

As aplicações mais recentes de biocatalisadores imobilizados incluem a produção de substâncias de alto valor agregado por bioconversão regioespecífica ou estereoespecífica, o tratamento seletivo de poluentes específicos para resolver problemas ambientais, a análise contínua com alta sensibilidade e especificidade

¹²³ Y. Ikeda, e Y. Kurokawa, Y., J. Am. Oil Chem. Soc., 78 (2001) 1099.

¹²⁴ J.P. Chen, W.S. Lin e M.F. Chang, J. Am. Oil Chem. Soc., 79 (3), (2002), 309.

¹²⁵ H. Abbas e L. Comeau, Enz. and Micr. Techn., 32 (2003) 589.

de compostos de interesse, a conversão de energia em sistemas biológicos e, finalmente, em medicina, a confecção de órgãos artificiais e a formulação de drogas à base de enzimas.

A heterogeneização das enzimas é muito importante industrialmente, pois possibilita que após a reação, as enzimas sejam reutilizadas, o que diminui os custos de fabricação. Isso justifica as inúmeras publicações na área de catálise enzimática heterogênea.

2.6.2.5 – Biotransformações na Indústria

Uma alternativa aos processos tradicionais da indústria química são os processos tecnológicos que se baseiam em biotransformações, levadas a efeito por células vivas, e na biocatálise, efetuada por enzimas.

Com o desenvolvimento de novas técnicas de produção e purificação de enzimas, inúmeras novas aplicações de biocatalisadores surgiram na indústria.⁽¹²⁶⁾

Enzimas conhecidas há mais de 150 anos e utilizadas industrialmente há mais de 50 anos vêm, de forma consistente, ultrapassando as barreiras do seu nicho tecnológico tradicional - a indústria de alimentos e bebidas, sendo usadas na formulação de biodetergentes, em diagnósticos clínicos, como agentes terapêuticos, em procedimentos de engenharia genética, no processamento de couros e fibras naturais e em química fina, para a produção de fármacos e vitaminas. Essas aplicações suportam um mercado mundial de enzimas que é avaliado em cerca de US\$ 1,5 bilhão por ano.⁽¹⁰³⁾

Nos últimos anos, mais de 13.000 artigos foram publicados, tendo como foco o uso de catalisadores naturais (enzimas) para a transformação de compostos orgânicos.⁽¹⁰³⁾

A biotransformação dos materiais graxos tem sido intensamente estudada devido à importância destes na indústria farmacêutica, química e alimentícia. A companhia japonesa Miyoshi Oil and Fat Co. tem utilizado em escala industrial

¹²⁶ H.E. Schoemaker, D. Mink e M.G. Wubbolts, *Science*, 299 (2003) 1694.

uma lipase fúngica na etapa de hidrólise de óleo, para a manufatura posterior de sabões.

Um outro exemplo de aplicação na indústria é o processo Ezumax, desenvolvido pela empresa alemã Lurgi, para a degomagem de óleos vegetais.

As lipases também vêm sendo utilizadas na mudança das propriedades naturais de óleos e para a obtenção de margarinas ou gorduras com baixo teor calórico.

Os processos enzimáticos são uma alternativa aos processos convencionais, apresentando vantagens significativas. O consumo energético é menor porque a operação é feita em condições mais brandas, o que também minimiza a degradação térmica dos produtos. Além disso, a especificidade das enzimas previne a ocorrência de reações secundárias, sendo obtidos produtos mais puros e limpos. Por estes motivos, e com a redução dos custos de produção das enzimas, inúmeras novas aplicações estão sendo implementadas na indústria.

2.7 - Planejamento Fatorial, Análise de Variância e Método de Superfície de Resposta

A importância das variáveis (ex. temperatura, % de catalisador, etc) em um processo pode ser determinada através da utilização de métodos de planejamento experimental. Através desta técnica, é possível a verificação dos efeitos individuais e de interação de todas as variáveis sobre as respostas (ex. rendimento da reação), a definição das variáveis mais importantes para o processo, a avaliação dos erros experimentais, a modelagem empírica dos resultados em função das variáveis escolhidas, e conseqüentemente a definição das faixas ótimas de operação do processo.

Os métodos de planejamento experimental e análise de superfície de resposta têm como base o planejamento fatorial. Para executar um planejamento fatorial, é necessário especificar os níveis em que cada fator deve ser estudado, isto é, os valores dos fatores (ou as classes, nos casos qualitativos) que serão

utilizados para os experimentos. Se houver n_1 níveis de fator 1, n_2 de fator 2, ..., e n_k do fator k, o planejamento será um fatorial $n_1 \times n_2 \times \dots \times n_k$.

Para estudar o efeito de qualquer fator sobre uma dada resposta, precisamos fazê-lo variar de nível e observar o resultado que essa variação produz sobre a resposta. Para isso, precisamos ter o fator em, pelo menos, dois níveis diferentes, logo para k fatores, isto é, k variáveis controladas pelo experimentador; assim um planejamento completo de dois níveis exigirá a realização de $2 \times 2 \times \dots \times 2 = 2^k$ ensaios diferentes.⁽¹²⁷⁾

Com os dados obtidos após a execução dos ensaios, é possível calcular os efeitos principais e de interação das variáveis sobre as respostas, determinar quais são os efeitos mais significativos, comparando o valor do efeito com o do erro experimental estimado, e até ajustar um modelo de 1ª ou 2ª ordem para correlacionar variáveis e respostas.

Para avaliar se os modelos empíricos obtidos através de regressão multilinear ou não-linear apresentam um grau de ajuste adequado aos dados experimentais, é necessário realizar uma análise estatística, utilizando alguns parâmetros descritos a seguir:⁽¹²⁸⁾

O coeficiente de correlação (R) é um parâmetro estatístico que compara a variância dos pontos experimentais em relação ao modelo proposto com a variância da própria população de pontos experimentais. Quando o valor do coeficiente for 1, a correlação entre os valores previstos pelo modelo e os valores experimentais será perfeita.

As somas quadráticas dos desvios também é um parâmetro importante, pois o percentual de variação explicada em torno da média (R^2) está relacionado com os resíduos do modelo, sendo;

$$R^2 = (\text{Soma quadrática dos resíduos})/(\text{Soma quadrática total}).$$

¹²⁷ B. Barros Neto, I.S. Scarminio e R.E. Bruns, Como fazer experimentos, 2ª ed. Campinas, SP: Editora Unicamp, 2003. cap. 3 e 5.

¹²⁸ D.C. Montgomery, Design and Analysis of Experiments, 6th edition, New York: John Wiley & Sons, Inc., 2005.

Se não houver resíduos, o R^2 será igual à unidade e quanto maior for a fração descrita pela regressão, melhor será o ajuste do modelo experimental.

A avaliação da significância estatística do modelo é verificada através do teste F, onde é comparado o valor estimado para F a partir dos dados experimentais com um valor tabelado de F. Se o F calculado for maior do que o F tabelado, pode-se afirmar que a equação (modelo) é estatisticamente significativa e que os dados experimentais são representados pelo modelo proposto. Para que uma regressão seja útil para fins preditivos, o F calculado deve ser no mínimo 4 a 5 vezes o valor de F tabelado.⁽¹²⁷⁾

A análise dos resultados de variância obtidos da Tabela ANOVA (metodologia estatística utilizada para validar o modelo proposto) permite a verificação da significância dos efeitos estudados sobre a resposta e a validação do modelo estatístico utilizado.

Um modelo ideal deve ter boa significância ($p < 0,05$), alta confiabilidade (dados dentro do intervalo de confiança de 95%, ou seja, resíduo irrelevante) e baixa variabilidade ($R^2 > 70\%$).

Capítulo 3: Objetivos

Este trabalho tem como objetivos:

- Transformar de forma seletiva a matéria graxa do CTO em ésteres metílicos, através da catálise homogênea enzimática ou química.
- Otimizar o processo de catálise enzimática homogênea, através de um planejamento de experimentos fatorial completo e das análises de superfície de resposta.
- Heterogeneizar o catalisador enzimático em um polímero orgânico.
- Otimizar o processo de catálise enzimática heterogênea através de experimentos em reatores do tipo batelada e em processo contínuo.
- Otimizar os processos de separação para os ésteres metílicos, ácidos resínicos e os esteróis presentes no CTO.

Capítulo 4: Parte Experimental

4.1 Reagentes e Solventes Utilizados

Crude Tall Oil (fornecido pela RESITEC Indústrias Químicas LTDA.), enzima - *Candida antartica* B (lípase proveniente do micro-organismo *Aspergillus oryzae* - Novozym CALB L - Novozymes S/A), polipropileno (MP 100 - Membrana S/A), KH_2PO_4 (Merck), ácido metanossulfônico (Merck), hexano (Aldrich), KOH (Fluka), metanol 99,0 % (Resana; grau técnico e Merck; grau HPLC), álcool etílico 98,0 % (Merck), fenolftaleína (Fluka), xilol (Merck), H_2SO_4 (Merck), pirogallol 99,0 % (Merck), éter etílico (Aldrich), oleato de metila (Aldrich), linoleato de metila (Fluka), linolenato de metila (Fluka), ciclo-hexano (Fluka), isovalerato de colesterol (Merck), piridina (Merck), anidrido butílico (Fluka), beta-sitoesterol (99,0 % padrão - Aldrich), campesterol (99,0 % padrão - Aldrich), estigmaesterol (99,0 % padrão - Aldrich), Diazald (N-metil-N-nitroso-p-toluenosulfonamida), diclorometano (Merck) e acetona (Merck). Todos estes compostos foram utilizados sem tratamento prévio.

4.2 Esterificação do CTO Utilizando Catálise enzimática homogênea

4.2.1 - Planejamento de Experimentos fatorial 2^5

A reação de esterificação enzimática homogênea foi estudada, utilizando-se um planejamento fatorial 2^5 com um ensaio em triplicata no ponto central. Os fatores avaliados foram o tempo de reação (h), a temperatura da reação ($^{\circ}\text{C}$), o teor de catalisador (%), o teor de metanol (%) e o teor de água (%), como mostrado na Tabela 9.

Tabela 9: Fatores do Experimento.

		Nível de Variação		
Fator		-1	0	1
A:Tempo	(h)	6	15	24
B:Temperatura	(C)	24	45	60
C:Enzima	(%)	0,5	0,75	1
D:Metanol	(%)	5	10	15
E:Agua	(%)	0	7,5	15

O CTO, o metanol, a água destilada e o catalisador homogêneo (lipase Novozym CALB L) foram pesados em um reator de 100 mL, seguindo os dados do planejamento de experimentos indicados na Tabela 10.

Tabela 10: Resultados obtidos para o planejamento fatorial 2⁵

	Tempo (h)	Temperatura (°C)	Enzima (%)	Metanol (%)	Água (%)	Conversão (%)
Ensaio	A	B	C	D	E	
35	6	24	0,5	5	0	72,82
12	24	24	0,5	5	0	74,73
17	6	60	0,5	5	0	38,45
30	24	60	0,5	5	0	39,92
33	6	24	1	5	0	79,14
11	24	24	1	5	0	80,98
13	6	60	1	5	0	47,24
23	24	60	1	5	0	71,76
10	6	24	0,5	15	0	25,12
3	24	24	0,5	15	0	55,10
4	6	60	0,5	15	0	4,24
27	24	60	0,5	15	0	32,32
5	6	24	1	15	0	30,70
21	24	24	1	15	0	54,14
8	6	60	1	15	0	9,36
16	24	60	1	15	0	8,84
34	6	24	0,5	5	15	91,82
7	24	24	0,5	5	15	79,22
31	6	60	0,5	5	15	50,69
9	24	60	0,5	5	15	68,28
32	6	24	1	5	15	85,80
18	24	24	1	5	15	87,39
6	6	60	1	5	15	48,37
24	24	60	1	5	15	62,59
19	6	24	0,5	15	15	85,07
14	24	24	0,5	15	15	99,23
15	6	60	0,5	15	15	76,42
2	24	60	0,5	15	15	65,87
26	6	24	1	15	15	86,42
28	24	24	1	15	15	99,22
22	6	60	1	15	15	77,53
1	24	60	1	15	15	59,94
25	15	42	0,75	10	7,5	90,05
29	15	42	0,75	10	7,5	89,07
20	15	42	0,75	10	7,5	91,24

As reações foram mantidas sob agitação magnética de 24 °C a 60 °C por 6 a 24 h, sendo retiradas alíquotas a cada hora para a análise do Índice de Acidez (I.A.). Posteriormente, a umidade e o excesso de metanol foram eliminados em estufa a vácuo.

O grau de conversão dos ácidos graxos livres em ésteres metílicos foi determinado medindo-se o valor ácido inicial e final.

$$\% \text{ Convers\~ao} = \frac{(\text{I.A. inicial do CTO} - \text{I.A. mistura de rea\~c\~ao no tempo t}) \times 100}{\text{I.A. dos \~acidos graxos presentes no CTO}}$$

O I.A. dos \~acidos graxos presentes no CTO foi calculado atrav\~es da an\~alise do teor de \~acidos graxos (por cromatografia de fase gasosa utilizando-se o CTO metilado; ver condi\~c\~oes cromatogr\~aficas item 4.10) e do teor de \~acidos res\~inicos presentes no CTO.

Exemplo:

Tabela 11: C\~alculo do Peso Molecular m\~edio para o TOFA.

TOFA-ME GC/MS	%	PM (g/mol)	
C14	0,4	228,4	0,9
C15	0,1	242,4	0,3
C16	10,3	256,4	26,4
C17	0,2	270,5	0,4
C18	2,4	284,5	6,7
C18:1	50,6	282,5	142,9
C18:2	32,7	280,5	91,7
C18:3	2,1	278,4	5,8
C20	0,4	312,5	1,1
C20:2	0,7	308,5	2,2
C22	0,2	340,6	0,5
PM (m\~edio TOFA) =			279,1

$$A: \text{I.A. TOFA Te\~orico} = \text{PM (KOH)} \times 1000 / \text{PM (m\~edio TOFA)}$$

$$A: \text{I.A. TOFA Te\~orico} = 201,36 \text{ mgKOH/g}$$

$$B: \text{Teor de \~acidos Graxos} = 53,2\%$$

$$\text{I.A. dos \~acidos graxos presentes no CTO} = A \times B$$

$$\text{I.A. dos \~acidos graxos presentes no CTO} = 107,1$$

Foi utilizado o programa Design-Expert® vers\~ao 4.0, comercializado pela Stat-Ease Inc, para o tratamento dos dados do planejamento de experimentos.

4.2.2 Esterificação do CTO com a adição de metanol em duas etapas

Diferentes quantidades de metanol, 6,0 g (187,5 mmol) ou 8,0 g (250 mmol), foram pesadas com 40,0 g (76,62 mmol de ácidos graxos livres) de CTO, 4,0 g de água destilada, 20 mg da lipase nativa comercial (Novozym CALB L) em um reator de 45 mL. As amostras foram agitadas por 70 h a 45 °C. O metanol foi adicionado em duas etapas, 0 h (início da reação) e após 24 h de reação. Foram retiradas alíquotas para a análise do I.A.

4.2.3 Esterificação do CTO catalisado por lipases em larga escala

A reação de esterificação do CTO em larga escala foi efetuada utilizando-se as condições otimizadas do sub item 4.2.1.

Em um tanque de 25 m³ (Figura 19) foram adicionados 13.750 kg (26,34 kmol) de CTO, 2.060 kg (15%, 64,37 kmol) de metanol, 2.060 kg (15 %) de água e 7,0 kg (0,05 %) de lipase nativa (Novozym CALB L). O tanque foi re-circulado com uma bomba centrífuga de 20 m³ por uma semana (168 h), e foram retiradas alíquotas de 2 em 2 horas para a análise do I.A.



Figura 19: Tanque de 25 m³ com sistema de recirculação.

4.3 Esterificação do CTO utilizando catálise enzimática heterogênea

4.3.1 Síntese do Catalisador Heterogêneo

Em um balão volumétrico de 50 mL foram pesados 4,0 ou 10,0 g de uma lipase, obtida a partir da *Candida antartica* B (Novozym CALB L) e 20,0 g de polipropileno (MP 100). Foram sintetizados dois catalisadores heterogêneos com uma relação de 0,2 g/g e 0,5 g/g de lipase para o polipropileno. A mistura foi tamponada para pH 7,0 com 20,0 mL (100 mmol) de uma solução aquosa de KH₂PO₄. O sistema foi mantido sob agitação magnética à temperatura ambiente por 12 h, sendo posteriormente filtrado, e o sólido, lavado com 20,0 mL de água e 20,0 mL de hexano.

4.3.2 Esterificação em batelada, utilizando catalisador enzimático imobilizado.

Em um reator de 45 mL, foram adicionados 40,0 g (76,61 mmol) de CTO, 4,0 g (125 mmol) de metanol, 4,0 g de água e 2,0 ou 3,0 g da lipase imobilizada em polímero orgânico. A mistura reacional foi mantida sob agitação à temperatura de 30 a 45 °C por 24 h. Foram retiradas alíquotas a diferentes tempos de reação, para a análise do índice de acidez.

Após 24 h de reação, o catalisador foi lavado com água e hexano e re-utilizado em outros experimentos.

4.3.3 Esterificação Contínua com catalisador enzimático suportado

Uma coluna de 170 mm de altura e 25 mm de diâmetro foi utilizada para os experimentos de esterificação contínua. O CTO com 10 % de água e 10 % de metanol foi previamente misturado em um reator a 40 °C, a coluna foi operada a 35 °C. O fluxo da coluna utilizado foi de 0,33 g/min, utilizando-se uma bomba peristáltica, e a coluna foi empacotada com 15,8 g da lipase suportada em polipropileno. Foram retiradas alíquotas durante a reação para a análise do índice de acidez. A relação de lipase para o polipropileno utilizada para a preparação do catalisador heterogêneo foi de 1 g/g.

4.4 Esterificação do CTO com catálise química homogênea

Em uma autoclave de 2 L BEP 280 (Figura 20), foram adicionados 1,0 kg (1,91 mol de ácidos graxos livres) de CTO, 0,5 kg (15,62 mol) de metanol e 5,0 g (52 mmol) de ácido metanossulfônico. O sistema foi mantido por 2 h sob agitação mecânica, a 140 °C e 6,0 bar de pressão. Após duas horas de reação, a autoclave foi despressurizada. O produto foi lavado com 500 mL de água para eliminar o residual de ácido metanossulfônico, e o excesso de água foi destilado.



Figura 20: Autoclave de 2 L BEP 280.

4.5 Reação dos esteróis presentes no CTO com ácido bórico

Em um balão volumétrico de 2 L, foram adicionados 1,0 kg (0,1 mol de esteróis livres) de CTO-Me (onde os ácidos graxos foram previamente esterificados com metanol) e 5,0 g (0,03 mol) de ácido bórico. O sistema foi mantido por 4 h sob agitação mecânica a 220 °C. Posteriormente, o teor de esteróis livre e total foi analisado por cromatografia de fase gasosa (ver condições cromatográficas item 4.10).

4.6 Cristalização dos esteróis presentes no CTO

Em um béquer de 1 L, foram adicionados 200 g de CTO concentrado (contendo 22,31% de esterol livre) e 800 mL de uma mistura de solventes (94 % heptano:2% metanol:2% água). O sistema foi resfriado a 0 °C; após a cristalização dos esteróis (30 min), os mesmos foram filtrados e caracterizados.

4.7 Fracionamento do CTO

O CTO foi fracionado em um evaporador tipo *thin film* (WFE Figura 21), sendo operado a 1 mbar de vácuo, entre 140 °C e 240 °C, em um fluxo contínuo de CTO de 600 mL/h.



Figura 21: Evaporador “*thin film*”.

O CTO também foi fracionado em uma coluna de destilação piloto, com aproximadamente 18 pratos teóricos, sem refluxo e sob vácuo de 1 mbar. A temperatura do reator que alimentou a coluna foi de 220 °C, e a temperatura do topo da coluna foi de 140 a 150 °C.

4.8 Metilação dos ácidos resínicos e graxos com diazometano

Em um reator de 50 mL (Figura 22) com junta esférica, foram adicionadas duas gotas de CTO ou CTO-Me (proveniente da esterificação enzimática ou química) e 2 mL de uma solução 10 % de metanol anidro em éter. No gerador de diazometano, foram adicionados 100 mg do reagente de Diazald (N-metil-N-nitroso-p-toluenosulfonamida), 1,7 mL de éter e 1 mL de uma solução 35 % de KOH em água. Um fluxo lento de N_2 foi utilizado para borbulhar o gás produzido no tubo esterificador. Quando a solução do tubo esterificador ficou amarela, o fluxo de N_2 foi interrompido, pois isto indica que todos os ácidos carboxílicos foram esterificados e que o excesso de gás foi neutralizado no tubo neutralizador.

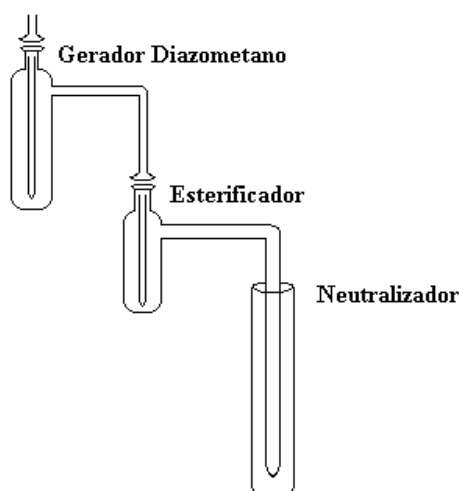


Figura 22: Sistema reacional para a esterificação com diazometano.

4.9 Métodos Analíticos

- Índice de Acidez – método ISO 660, 1996.
- Teor de Ácidos Resínicos – método AOCS - Ts 1a-64, 1998.
- Ácidos Graxos Livres – método AOCS Ca 5^a-40, 1993.
- Teor de Matéria Insaponificável – método AOCS Ca 6b-53, 1993.
- Índice de Saponificação – método ISO 3657, 2002.

- Teor de Água – método AOCS Tb 2-64, 1995.
- Índice de Iodo – método Collection Henkel KGaA – Duesseldorf O-3,1987.
- Teor de esteróis livres e totais – método Cognis O-101b, 2004.

4.9.1 Análise do Índice de Acidez (I.A.) por Volumetria.

O índice de acidez é determinado pela dosagem dos ácidos graxos livres ou minerais com solução alcoólica de hidróxido de potássio ou hidróxido de sódio, até a viragem do indicador fenolftaleína. O resultado é expresso em mg de KOH necessários para neutralizar os ácidos graxos livres presentes em 1 g de amostra.

Em um erlenmeyer de 250 mL, foi pesada a amostra numa massa conforme cálculo abaixo:

$$\text{Peso da amostra} = \frac{380 \text{ a } 420}{\text{IAT}} \quad (\text{Fazer uma interpolação})$$

Sendo :

IAT = índice de acidez teórico (massa molecular do hidróxido de potássio x 1000 / massa molecular do composto).

a) Para IAT 20 a 40, pesar 10 g.

b) Para IAT abaixo de 20, aplicar o método AOCS - Te 2a 64 (89).

A amostra foi dissolvida em 50 mL de álcool etílico PA absoluto, neutralizado (rosa pálido sob gotas do titulante KOH 0,5 mol/L, em presença de fenolftaleína).

Foram adicionadas 5 a 6 gotas do indicador fenolftaleína sob constante agitação. A amostra foi então titulada com KOH - 0,5 mol/L, até a primeira coloração rosa pálido persistente por 30 segundos.

O volume gasto na titulação (mL) foi registrado e empregada para o cálculo do Índice de acidez (mg KOH/g), conforme a Equação 1.

$$I.A. = \frac{V \times f \times M \times 56,10}{MA} = \frac{V \times f \times 28,05}{MA} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde:

M = Molaridade nominal do titulante = 0,5 mol/L

V = Volume gasto mL

F = Fator de correção respectivamente

MA = Massa da amostra.

4.9.2 Teor de Ácidos Resínicos por Volumetria

O teor de ácidos resínicos é determinado através da metilação do material graxo em meio ácido; nessa condição (meio ácido), os ácidos resínicos não são esterificados. Com uma solução de KOH 0,5 mol/L neutraliza-se a acidez mineral (da metilação) até pH 4. Os ácidos resínicos são titulados entre pH 4 a 10,8 e então é calculado o teor em porcentagem, considerando-se a massa molecular média de 302 (ver Figura 9, pág. 17).

Em um erlenmeyer de 250 mL, foram pesados 4,95 a 5,05 g da amostra. Adicionaram-se 5 mL de xilol, 100 mL de metanol, 5 mL de solução 4:1 H₂SO₄/CH₃OH e 3 a 4 esferas de vidro, para evitar ebulição violenta. O erlenmeyer foi acoplado a um condensador e aquecido. Após 30 min sob aquecimento, o sistema foi resfriado e o seu conteúdo transferido para um béquer de 250 mL. O erlenmeyer foi ainda lavado duas vezes com 20 mL de etanol e o conteúdo adicionado ao anterior.

Em seguida, foi acoplado um eletrodo, e sob agitação magnética o material foi titulado com KOH 0,5 mol/L padronizado, anotando os volumes gastos nas

viragens em pH = 4,0 (A, mL) e pH = 10,5 (B, mL). O teor de ácidos resínicos foi então determinado pela Equação 2.

$$\% \text{ Ácidos Resínicos} = \frac{(B - A) \times f \times 0,5 \times 30,2}{PA} \quad (\text{Equação 2})$$

Onde:

B = volume gasto de KOH 0,5 mol/L em pH 10,5 (mL)

A = volume gasto de KOH 0,5 mol/L em pH 4,0 (mL).

f = fator de correção do KOH 0,5 mol/L.

PA = massa da amostra (g)

302 = massa molecular média dos ácidos resínicos.

4.9.3 Teor de esteróis livres e totais (CG-FID).

O teor de esteróis livres e totais foi determinado por cromatografia de fase gasosa pelo método de padronização interna. Na determinação do teor de esteróis livres, a amostra foi diluída e refluxada com uma solução do padrão interno (isovalerato de colesterol), sendo posteriormente injetada no cromatógrafo gasoso. Na determinação do teor de esteróis totais, a amostra foi submetida à saponificação e posterior extração (com éter etílico) na presença de um oxidante, para depois ser analisado por CG (ver condições cromatográficas item 4.10).

4.9.3.1 Análise de esteróis totais:

Para o processo de saponificação, as amostras foram pesadas em um erlenmeyer de 125 mL, conforme os seguintes critérios:

Para teores até 5 %, 200 mg;

Para teores de 5 a 15 %, 100 mg;

Para teores de acima de 15 % pesar 65 mg;

Foram acrescentados 5 mL da solução etílica de pirogalol (0,5 g/L), como padrão interno, acoplado o condensador e adicionado 4 mL da solução de KOH (28,5 mol/L). O material foi mantido sob refluxo por 30 min a 110 °C. O conteúdo foi transferido quantitativamente do frasco ao extrator, usando-se um total de 50 mL de água destilada. Foram acrescentados 50 mL de éter etílico ao frasco, o qual foi agitado e transferido ao extrator. As amostras foram agitadas por 2 minutos. O éter etílico foi separado e o processo repetido num total de 3 vezes.

O éter foi evaporado em banho de glicerina sob nitrogênio, sendo acrescentado 5 mL da solução 10% de álcool em cicloexano. Os solventes foram evaporados e quando observou-se a evidência de água, repetiu-se a adição da solução cicloexano/álcool.

Foram acrescentados 10 mL da solução de CIV (padrão interno = isovalerato de colesterol 1,5 mg/mL em solução 3:1 piridina/anidrido butílico), e refluxou-se por 10 minutos.

A amostra foi transferida para frasco auto-injetor e analisada por cromatografia de fase gasosa (ver condições cromatográficas item 4.10).

4.9.3.2 Análise do esterol livre:

As amostras foram pesadas em um erlenmeyer de 125 mL, conforme os seguintes critérios:

Para teores até 5 %, 200 mg;

Para teores de 5 a 15 %, 100 mg;

Para teores acima de 15 % pesar 65 mg;

Foram acrescentados 10 mL da solução de CIV (padrão interno = isovalerato de colesterol 1,5 mg/mL em solução 3:1 piridina/anidrido butílico) e refluxou-se por 10 minutos.

A amostra foi transferida para frasco auto-injetor e analisada por cromatografia de fase gasosa (ver condições cromatográficas item 4.10).

O teor de esterol foi então determinado pela Equação 3, Equação 4 e Equação 5..

% do Esterol

$$\% \text{ Beta Sitosterol} = \frac{A \beta\text{-sitoesterol} \times \text{mpi} \times \text{RF} \times 100}{\text{Api} \times \text{mam}} \quad (\text{Equação 3})$$

$$\% \text{ Campesterol} = \frac{A \text{ campesterol} \times \text{mpi} \times \text{RF} \times 100}{\text{Api} \times \text{mam}} \quad (\text{Equação 4})$$

$$\% \text{ Stigmasterol} = \frac{A \text{ estigmasterol} \times \text{mpi} \times \text{RF} \times 100}{\text{Api} \times \text{mam}} \quad (\text{Equação 5})$$

Onde :

A β -Sitosterol = Área do pico do β -Sitosterol.

A Campesterol = Área do pico do Campesterol

A Estigmasterol = Área do pico do Estigmasterol.

mpi = massa do padrão interno (CIV em piridina/anidrido butírico) (mg)

RF = fator de referência calculado no sub-item 11.6

Api = área do padrão interno (CIV em piridina / anidrido butírico)

mam = massa da amostra (mg)

4.10 Caracterização e Quantificação dos Produtos

4.10.1 Caracterização por Espectrometria de Massas Acoplado a um Cromatógrafo a Gás (CG-EM)

Os produtos foram caracterizados por um cromatografo a gás acoplado a um espectrometro de massas (CG-EM) cromatógrafo HP 5890 série II, equipado com uma coluna capilar Ultra HP-5 (30 m, 0,25 mm de diâmetro interno). Foi utilizado um detector de massas HP 5970, fazendo-se comparação com amostras autênticas.

Condições analíticas: Coluna - Foi utilizada a seguinte rampa de aquecimento: 170 °C (1 min), 10 °C/min-270 °C (35 min), 70 °C/min-295 °C (10 min); Pressão coluna = 15 psi; Split = 15 mL/min, Volume = 0,5 µl; Injetor – 290 °C; Gás de arraste – Hélio; Volume = 1,0 µl.

4.10.2 Análise do Teor de Ácidos Graxos (CG-FID).

Na quantificação dos ácidos graxos por cromatografia em fase gasosa, utilizou-se um cromatógrafo a gás CG-Master equipado com uma coluna capilar-fase: Carbowax 20M (CG FI 547) – 50 metros, 0,25 mm de espessura e um detector por ionização em chama.

Condições analíticas: Coluna - 180°C; Tempo de análise - 30 minutos; Detector (Fid) – 220 °C; Injetor – 200 °C; Vaporizador – 300 °C; Split - 50 mL/min; Purga septo - 20 mL/min; Ar - 300 mL/min; H₂ - 30 mL/min; Make-up (N₂); - 30 mL/min; vasação – 2 mL/min; Pressão coluna – 15 psi; Gás de arraste – Hidrogênio; volume = 1,0 µl.

Foi utilizada a técnica de curva de calibração, utilizando-se padrões primários (ácido graxo C14, C16, C18, C18:1, C18:2, C18:3) para a quantificação.

4.10.3 Quantificação dos esteróis livres e totais por cromatografia em fase gasosa

Na quantificação dos esteróis livres e totais por cromatografia a gás, utilizou-se um cromatógrafo HP-5890-II equipado com uma coluna capilar-fase: dimetilpolisiloxano (HP 1) – 25 metros, 0,32 mm de espessura e um detector por ionização em chama.

Condições analíticas: Coluna - 285°C; Tempo de análise - 25 minutos; Detector (Fid) – 300 °C; Vaporizador – 300 °C; Split - 50 mL/min; Purga septo - 3 a 4 mL/min; Ar - 340 mL/min; H₂ - 30 mL/min; Make-up (N₂); - 14 mL/min; Coluna – 2 mL/min; Pressão coluna – 17 psi; volume = 1,0 µl.

Foi utilizada a técnica do padrão interno e curvas de calibração.

Capítulo 5: Resultados e Discussão

5.1 Composição média para os ácidos graxos, resínicos e substâncias neutras presentes no CTO

A composição e características principais obtidas para o CTO, estão descritas na Tabela 12.

Tabela 12: Composição e características principais para o CTO.

Análise	Crude Tall Oil
Ácidos resínicos %	32,9
Ácidos graxos %*	53,4
Esterol livre %	4,2
Esterol total %	4,7
Índice de acidez mg KOH/g	153,3
Índice de saponificação mg KOH/g	157,2
Matéria Insaponificáveis %	13,7
Índice de Iodo g I ₂ /100g	146,5
Água (Karl Fischer) %	1,3

*100-(Ácidos resínicos + Insaponificáveis)

Os resultados obtidos estão de acordo com os dados de literatura para o CTO proveniente de *Pinus elliotti*.^(129,130)

A composição média encontrada para os ácidos graxos (TOFA), os ácidos resínicos (BREU) e os esteróis presentes no CTO utilizado neste trabalho estão na Tabela 13.

¹²⁹ F.W. Dodge, Tall Oil and Its Uses, New York, N.Y., 1965, p. 12.

¹³⁰ D.F. Zinkel, Chem. Tech., 5 (1975) 235.

Tabela 13: Composição obtida para as frações do CTO.

Análise	TOFA	BREU	ESTEROL
PM _(médio) g/mol	278,7	302	414
IA _(teórico) mgKOH/g	201,4	185,8	-
IOH _(teórico) mgKOH/g	-	-	135,3
Distribuição Graxa TOFA (%)			
C14:0	0,4		
C15:0	0,1		
C16:0	10,3		
C17:0	0,2		
C18:0	2,4		
C18:1	50,6		
C18:2	32,7		
C18:3	2,1		
C20:0	0,4		
C20:2	0,7		
C22:0	0,2		
Ácido De-hidroabiético %	16,5		
Ácido Abiético %	34,6		
Outros Ácidos Resínicos %	48,9		
campesterol			5,5
campestanol			0,6
stigmasta-5,22,dieno-3-ol			0,4
beta-sitosterol			83,6
stigmastanol-3-ol			8,4
fucosterol			0,4
stigmast-7-en-3-ol			0,4

Os resultados obtidos para as frações de ácidos graxos (TOFA), os ácidos resínicos (BREU) e os esteróis estão de acordo com os dados de literatura para o CTO proveniente de *Pinus elliotti*.⁽³⁾

Na fração de ácidos graxos (TOFA), pode-se observar um alto teor de ácidos graxos insaturados (C18:1, C18:2 e C18:3), que é extremamente desejável para um grande número de transformações empregadas na indústria olequímica.

Na fração de ácidos resínicos, observamos um alto teor do ácido de-hidroabiético, substância que apresenta uma estabilidade térmica maior do que os outros ácidos resínicos. Altos teores deste material são desejáveis para aplicação na fabricação de resinas.

Os esteróis analisados apresentaram um alto teor de beta-sitoesterol, principal fitoesterol utilizado para o combate à hipercolesterolemia,⁽⁷⁶⁾ o que

explica o número de patentes e o interesse da indústria química pelo CTO como fonte alternativa (ao óleo de soja) para este material.

5.2 Esterificação Seletiva para os Ácidos Graxos Presentes no CTO

Neste trabalho, foram utilizados um catalisador enzimático e outro químico para promover a esterificação seletiva dos ácidos carboxílicos graxos presentes no CTO.

Através desta esterificação seletiva foi possível aumentar a diferença de volatilidade dos ácidos graxos e dos ácidos resínicos presentes no CTO, o que permite uma separação mais eficiente destas substâncias, sem a necessidade de colunas de fracionamento de alta performance e altas temperaturas.

Optamos por trabalhar com o éster métilico dos ácidos graxos em função destes apresentarem uma maior diferença de volatilidade em relação aos ácidos resínicos, o mesmo não ocorreria com os ésteres etílicos destes ácidos.

5.2.1 Estudo da Reação de Esterificação Enzimática Homogênea

Em um trabalho anterior realizado pelo grupo com outro substrato (DDOS), foram efetuados inúmeros ensaios para a seleção da melhor enzima para o processo de esterificação dos ácidos graxos presentes neste material, a enzima que apresentou a melhor performance para o DDOS foi a lipase B (*Candida antartica* – Novozym CALB L), com base nestes ensaios prévios definimos que esta seria a lipase utilizada para a esterificação seletiva dos ácidos graxos presentes no CTO.

A reação de esterificação enzimática foi estudada utilizando-se um planejamento fatorial 2^5 com um ensaio em triplicata no ponto central.

Os fatores estudados foram o tempo de reação (h), a temperatura da reação ($^{\circ}\text{C}$), o teor de catalisador (%), o teor de metanol (%) e o teor de água (%).

Os efeitos encontrados são mostrados na Tabela 14.

Tabela 14: Efeitos encontrados no estudo da esterificação enzimática homogênea utilizando-se um planejamento fatorial 2^5 .

A	B	C	D	E	AB	AC	AD
8,147	-26,568	1,882	-13,106	31,188	-0,994	-0,610	1,827
AE	BC	BD	BE	CD	CE	DE	ABC
-5,693	-0,703	1,508	1,008	-4,033	-3,050	22,546	-1,386
ABD	ABE	ACD	ACE	ADE	BCD	BCE	BDE
-9,126	-0,540	-4,834	0,911	-4,575	-2,941	-1,336	1,506
CDE	ABCD	ABCE	ABDE	ACDE	BCDE	ABCDE	
4,331	-2,080	-1,519	-3,115	2,432	3,438	3,567	

* A = Tempo; B = Temperatura; C = % Enzima; D = % Metanol e E = % Água.

** AB, AC, AD, AE, BC, BD, BE, CD, CE, DE = interação de primeira ordem; ABC, ABD, ABE, ACD, ACE, ADE, BCD, BCE, BDE, CDE = interação de segunda ordem; ABCD, ABCE, ABDE, ACDE, BCDE = interação de terceira ordem e ABCDE = interação de quarta ordem.

Na Figura 23, temos o gráfico normal dos efeitos obtidos no planejamento fatorial 2^5 .

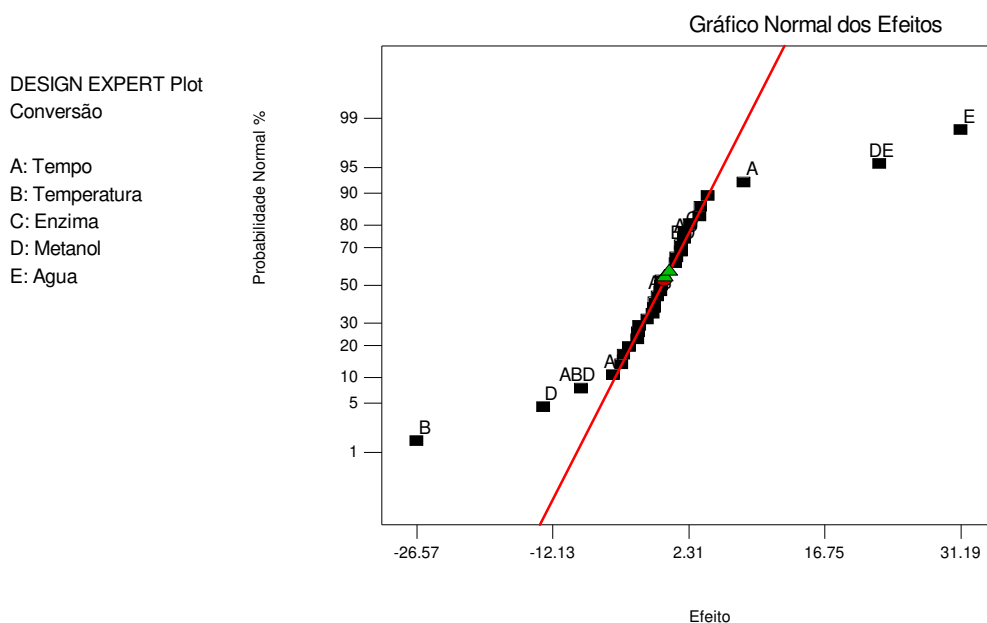


Figura 23: Gráfico normal dos efeitos, obtidos no planejamento fatorial 2^5 .

Podemos observar pelos resultados da Figura 23, que os pontos centrais se ajustam muito bem a uma reta que cruza a probabilidade acumulada de 50% praticamente sobre o ponto zero do eixo das abcissas. Faz sentido, portanto, considerar esses pontos como vindos de uma população normal de média zero.

Ou seja, eles representam efeitos sem nenhum significado físico. O mesmo já não podemos dizer dos outros valores, que estão identificados com as letras dos efeitos que representam. Dificilmente poderíamos pensar que esses pontos, tão afastados da reta, pertençam à mesma população que produziu os pontos centrais. Devemos interpretá-los, então, como efeitos realmente significativos, e tanto mais significativo quanto mais afastados estiverem da região central, seja para a direita, seja para a esquerda.⁽¹²⁷⁾ Neste caso, os valores mais significativos são relativos aos efeitos principais dos fatores E e B e a interação DE. Podemos considerar o fator C como inerte, o que transforma o planejamento num fatorial 2^4 em duplicata, como mostrado na Tabela 15.

Tabela 15: Fatorial em duplicata obtido pela eliminação do fator C.

Ensaio	Tempo (h) X_1	Temperatura (°C) X_2	Metanol (%) X_3	Água (%) X_4	Conversão (%) Y	Conversão (%) Z	Média	Variância
1	1(24)	1(60)	1(15)	1(15)	59,94	65,87	62,90	17,588
3	1(24)	-1(24)	1(15)	-1(0)	55,10	54,00	54,55	0,602
7	1(24)	-1(24)	-1(5)	1(15)	79,22	87,39	83,31	33,343
9	1(24)	1(60)	-1(5)	1(15)	68,28	62,59	65,44	16,193
11	1(24)	-1(24)	-1(5)	-1(0)	80,98	74,73	77,86	19,531
14	1(24)	-1(24)	1(15)	1(15)	99,23	99,22	99,23	0,000
16	1(24)	1(60)	1(15)	-1(0)	8,84	32,32	20,58	275,633
23	1(24)	1(60)	-1(5)	-1(0)	71,76	39,92	55,84	506,687
4	-1(6)	1(60)	1(15)	-1(0)	4,24	9,36	6,80	13,120
5	-1(6)	-1(24)	1(15)	-1(0)	30,70	25,12	27,91	15,594
6	-1(6)	1(60)	-1(5)	1(15)	48,37	50,69	49,53	2,673
13	-1(6)	1(60)	-1(5)	-1(0)	47,24	38,45	42,84	38,583
15	-1(6)	1(60)	1(15)	1(15)	76,00	77,53	76,76	1,165
19	-1(6)	-1(24)	1(15)	1(15)	85,07	86,42	85,74	0,919
32	-1(6)	-1(24)	-1(5)	1(15)	85,80	91,82	88,81	18,137
33	-1(6)	-1(24)	-1(5)	-1(0)	79,14	72,82	75,98	19,963

A variância de um efeito qualquer será 1/8 do valor da variância agregada calculada a partir das dezesseis variâncias dos ensaios em duplicata, que é 7,65. O erro-padrão do efeito será a raiz quadrada deste valor, que é 2,77. Multiplicando-se pelo valor do ponto da distribuição de Student com 16 graus de liberdade, chega-se ao intervalo de 95% de confiança para o valor de um efeito de: $\pm 5,87$. Isso significa que somente os efeitos principais dos fatores A,B,D e E e a interação DE e ABD são estatisticamente significativos, o que concorda com a análise feita pelo gráfico normal dos efeitos (Figura 23) para o planejamento fatorial 2^5 .

Pode-se observar que, com o aumento da temperatura de 24 para 60 °C, houve uma redução na taxa de conversão de 26,6 %. O aumento do teor de metanol de 5 para 15 %, também levou a um efeito negativo na taxa de conversão de 13,1 %. Isso pode indicar uma inativação térmica (com o aumento da temperatura) e uma inativação do sítio ativo da enzima pelo metanol.

O efeito da interação entre a água e o metanol está apresentado na Figura 24.

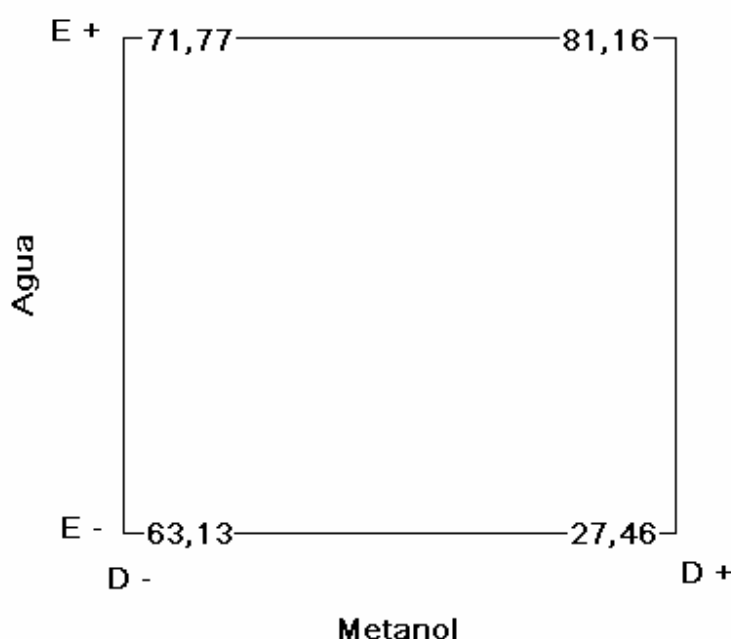


Figura 24: Efeito na interação entre a água e o metanol na conversão.

Pelos resultados apresentados na Figura 24, podemos observar que a reação é favorecida pelo o aumento do metanol na presença de altos teores de água (conversão de 81,16%).

Com o aumento do metanol na presença de baixos teores de água, observamos um decréscimo acentuado na conversão (27,46%), indicando a desativação do catalisador enzimático.

O ciclo catalítico para a catálise enzimática é mostrado na Figura 25.

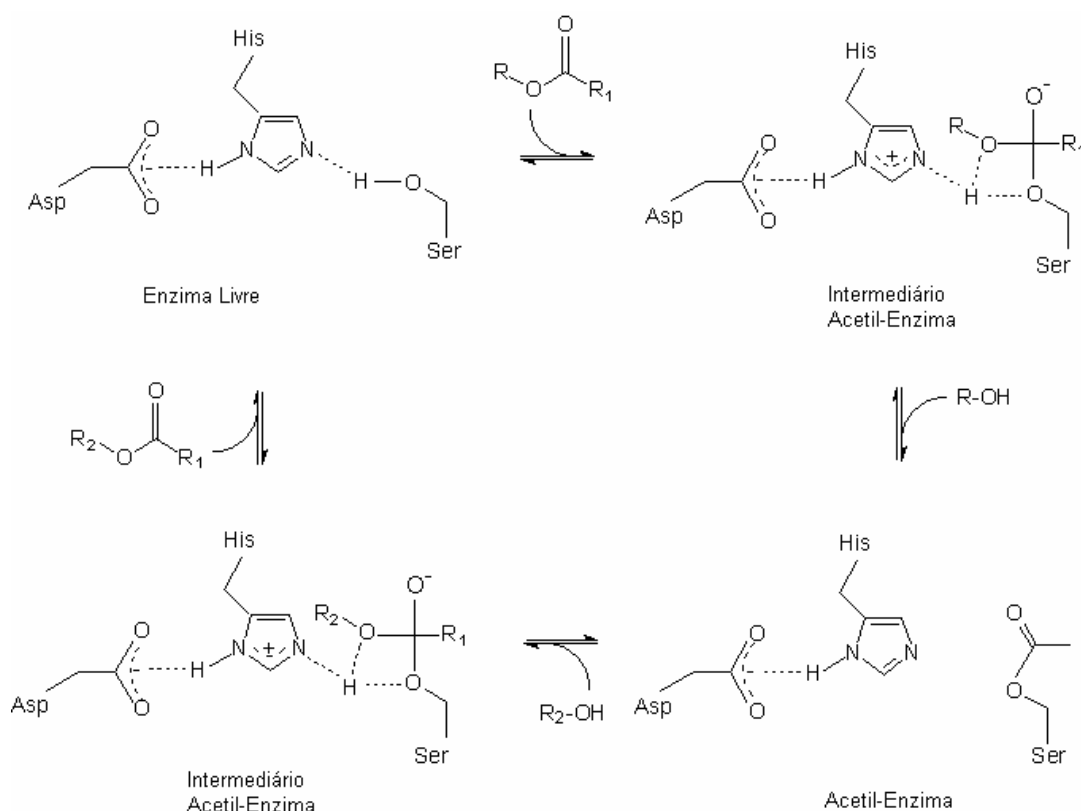


Figura 25: Ciclo catalítico para a catálise enzimática.

Podemos observar no ciclo catalítico da Figura 25 que a formação do intermediário Acetil-Enzima (substrato-enzima) é uma etapa crítica para este sistema catalítico.

O mecanismo proposto para a desativação da enzima pelo metanol é mostrado na Figura 26.

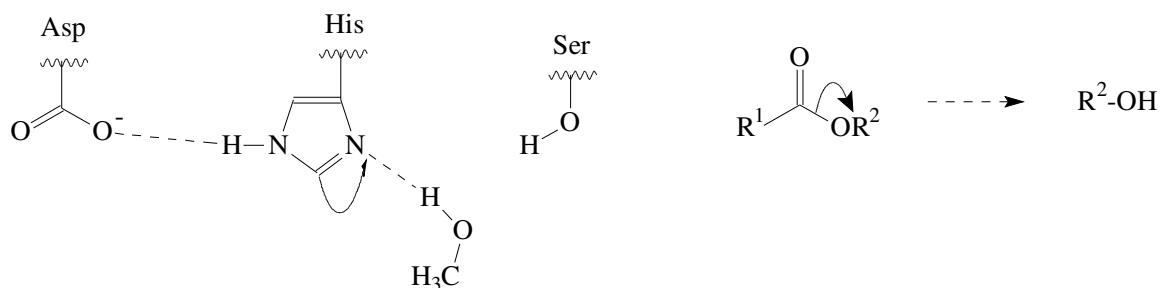


Figura 26: Mecanismo proposto para a desativação do catalisador enzimático pelo metanol.

O metanol poderia se ligar ao nitrogênio da histidina, o que inviabilizaria a formação do intermediário enzima-substrato, o que acarreta estes baixos rendimentos de conversão.

O aumento da porcentagem de água de 0 para 15 % e do tempo de reação de 6 para 24 h apresentou um aumento de 31,2 e de 8,1 %, respectivamente, para a conversão. A interação entre a água e o metanol apresentou um efeito positivo de 22,5 % no aumento da conversão, enquanto que a interação entre o tempo, a temperatura e o metanol apresentou um efeito negativo de 9,1 % para a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos.

Através dos resultados obtidos para os efeitos, podemos constatar que o aumento da concentração da enzima de 0,5 para 1,0 % não apresentou um efeito estatisticamente significativo para o aumento da conversão.

Com base em estudos anteriores realizados pelo grupo, com a mesma enzima em um outro substrato (DDOS – destilado da desodorização do óleo de soja), constatamos que com um teor mais baixo de enzima (0,05% - 0,1%) é suficiente para esterificação deste substrato, contudo a reação fica mais lenta (passa de 24 h para aproximadamente 140 h).

Devido ao elevado custo da enzima este teor menor é fundamental, optamos por trabalhar com um teor maior no desenho de experimentos para acelerar o tempo de execução dos ensaios.

A Tabela 16 mostra os resultados da análise dos efeitos estimados das variáveis independentes sobre a taxa de conversão dos ácidos graxos livres em ésteres metílicos para um modelo de 1ª ordem. A validação teórica do modelo matemático proposto foi realizada através da análise de variância (ANOVA) para a resposta converção.

Tabela 16: Efeitos estimados das variáveis independentes para um modelo de 1ª ordem.

Fator	Efeito	Erro Padrão*	Estimativa do Coeficiente	Prob > t
Média	63,40	7,82	60,90	
A-Tempo	8,15	2,70	4,07	0.0054
B-Temperatura	-26,57	2,70	-13,28	< 0.0001
C-Enzima	1,88	2,70	0,94	0.4833
D-Metanol	-13,11	2,70	-6,55	< 0.0001
E-Água	31,19	2,70	15,59	< 0.0001
DE	22,55	2,70	11,27	< 0.0001
ABD	-9,13	2,70	-4,56	0.0022

*O erro-padrão foi obtido através dos dados da Tabela 15.

A porcentagem de variação explicada em torno da média foi alta ($R^2=93,4$), indicando uma baixa variabilidade ($R^2>70\%$)⁽¹²⁷⁾, fornecendo um coeficiente de correlação entre as respostas observadas e as previstas pelo modelo de $R=0,9339$, o que indica uma excelente correlação entre os resultados experimentais previstos pelo modelo de 1ª ordem. A equação polinomial de primeira ordem obtida dos resultados dos coeficientes de regressão está descrita a seguir (Equação 6):

$$\text{Conversão} = 60,9 + 4,07A - 13,28B + 0,94C - 6,55D + 15,59E - 0,5AB + 0,91AD - 2,85AE + 0,75BD + 11,27DE - 4,56ABD$$

(Equação 6)

Podemos observar também que, com exceção da porcentagem de enzima, todas as variáveis são estatisticamente significativas ($p>0,05$).

Através da análise do gráfico cúbico das respostas (Figura 27) e dos gráficos de superfície de resposta (Figuras 28 e 29), podemos observar que os aumentos da quantidade de metanol e da temperatura diminuíram a conversão. Contudo, quando utilizamos água no sistema, o teor mais alto de metanol tem um efeito positivo no aumento da conversão, isto ocorre devido ao efeito de proteção que a água exerce no sítio ativo da enzima.

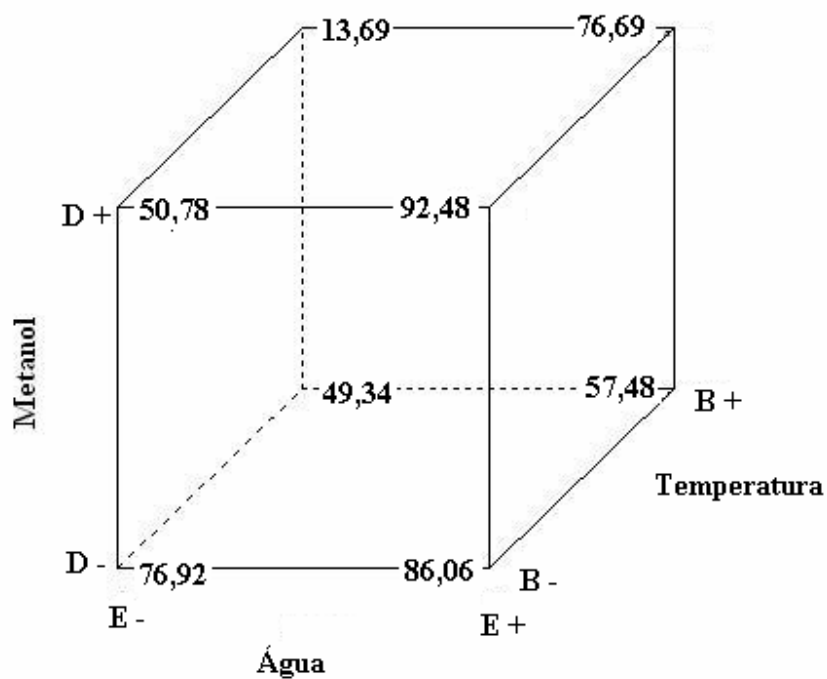


Figura 27: Gráfico das respostas médias em função dos fatores metanol, água e temperatura.

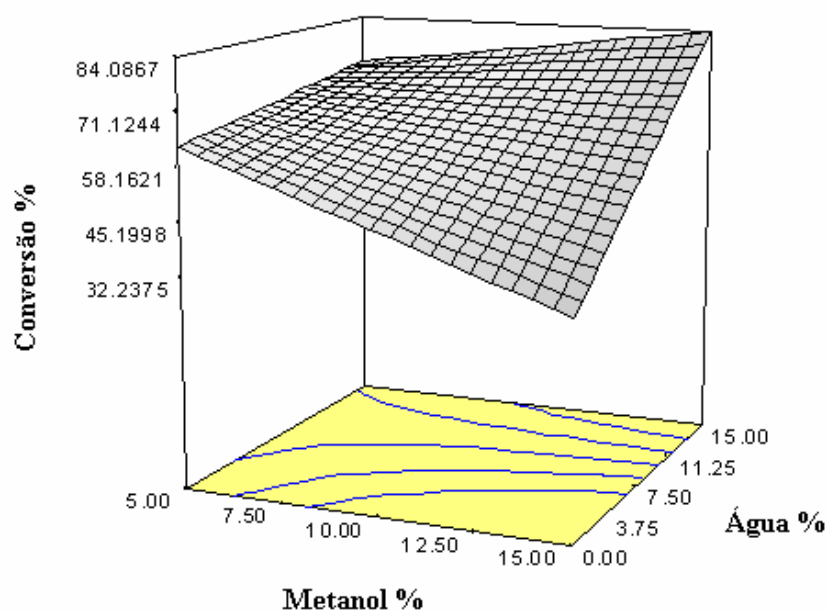


Figura 28: Gráfico da superfície de resposta para o metanol x água.

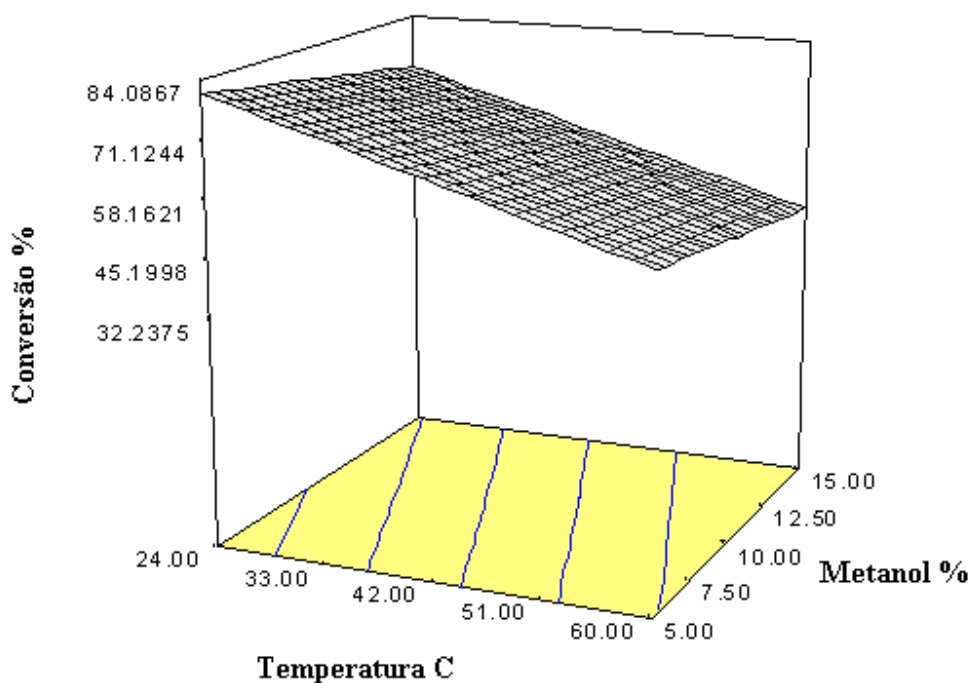


Figura 29: Gráfico da superfície de resposta para o temperatura x metanol.

A melhor condição para altos teores de conversão seria efetuar a reação a baixa temperatura com altos teores de água (5 a 15 %) e metanol (10 a 15 %). O limitante, neste caso, seria a diminuição da produtividade devido à diluição do sistema.

Foram efetuadas as cinéticas de reação para todos os 35 experimentos, através da retirada de amostras a cada hora para a medida do índice de acidez. Na Figura 30, podemos observar o efeito da água na esterificação do CTO com metanol.

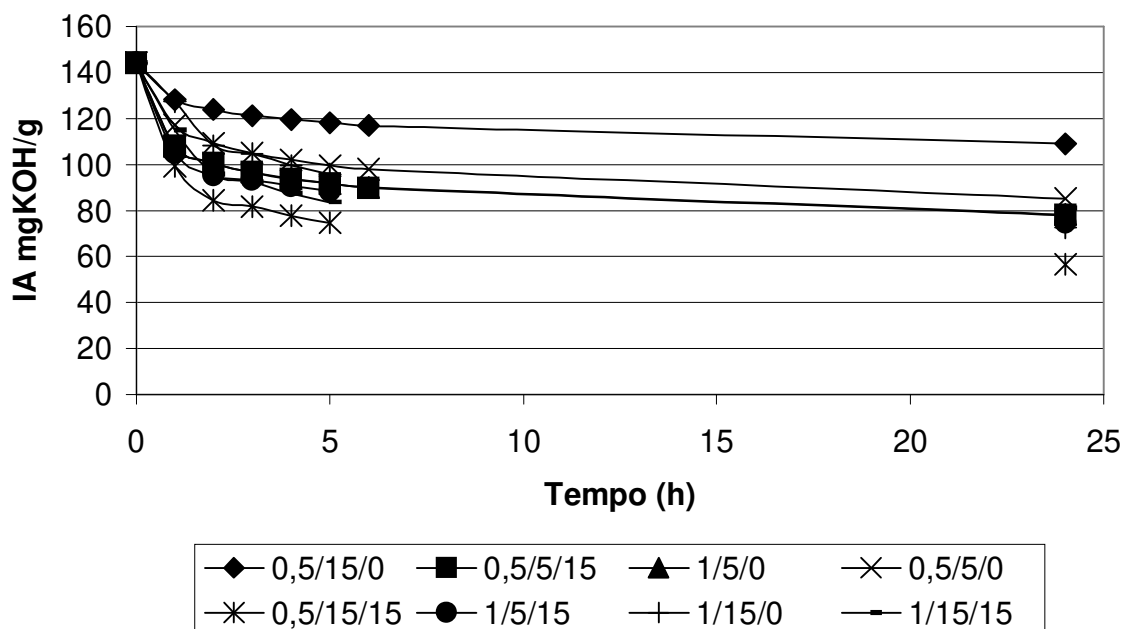


Figura 30: Esterificação do CTO a 24°C em 24h com diferentes teores (%) de enzima/metanol/água.

Pelos dados da Figura 30, podemos observar que a adição de água ao sistema diminui significativamente o índice de acidez com o tempo, o que indica uma maior conversão dos ácidos graxos a ésteres metílicos. Este efeito é mais forte quando o teor de metanol é maior.

Através do planejamento de experimentos, foi constatado que a adição de água ao sistema reacional favorece o aumento da conversão. Isto se deve à capacidade da água de estabilizar o intermediário acetil-enzima (Figura 18, pág. 35), através da formação de um microambiente propício à reação de esterificação dos ácidos graxos com metanol. ⁽¹³¹⁾

Foram efetuados ensaios em laboratório com diferentes teores de água; o resultado é apresentado na Figura 31.

¹³¹ J.P.M. Ferreira, Ensino em Biotecnologia – Segredos da Catálise Enzimática, Escola Superior de Biotecnologia – Universidade Católica Portuguesa – Porto.

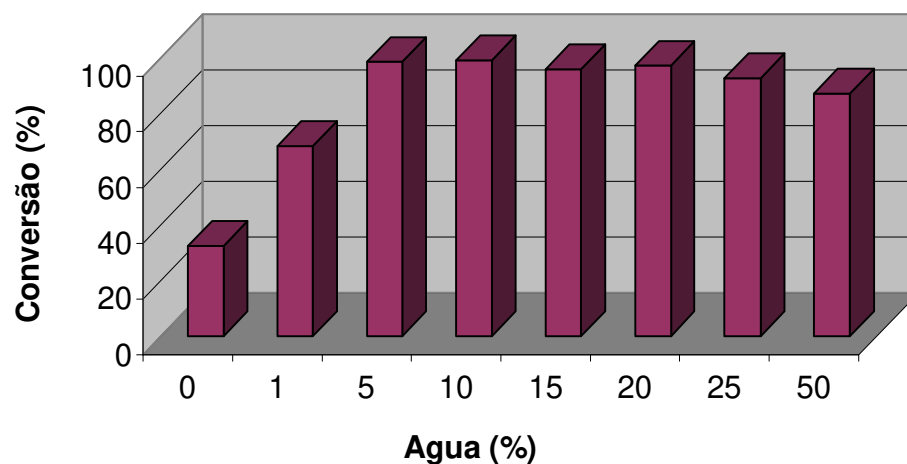


Figura 31: CTO esterificado com 10 % de metanol, 0,05 % de enzima a 45 °C, com diferentes teores de água.

Podemos observar, pelos dados da Figura 31, que a adição de água aumenta a esterificação seletiva dos ácidos graxos presentes no CTO. Contudo, a partir de 20 % ocorre uma diminuição na produtividade, em função dos altos teores de água presentes na reação. Também constatamos que a partir de 20 % de água há uma tendência de diminuição da conversão em função da competição entre a água e o metanol presentes no meio reacional. Constatamos que os teores ótimos de água estão entre 5 e 15 %.

Foi estudado o efeito da adição parcial do metanol ao sistema reacional. Os resultados estão descritos na Figura 32.

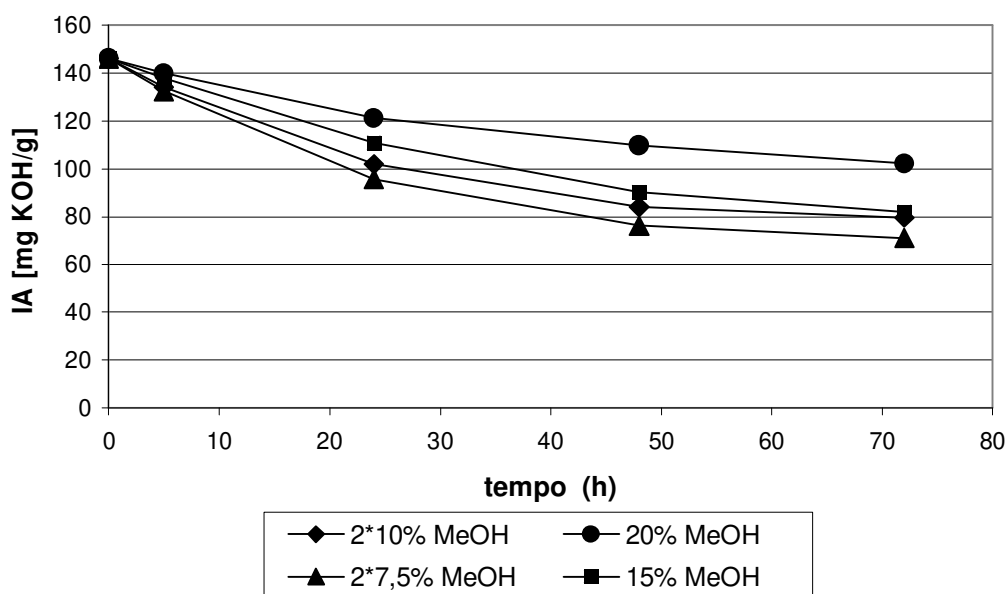


Figura 32: Esterificação do CTO com 15 a 20 % de metanol, 0,05 % de enzima, 45 °C e 10 % de água.

Quando se faz uma adição de 20 % de metanol tem-se um IA de 110 mgKOH/g após 48 h, contra 82 mgKOH/g ao se adicionar o reagente em duas porções de 10 %. Da mesma forma, para a adição de 15 % de metanol, tem-se um IA de 90 mgKOH/g após 48 h, contra 78 mgKOH/g ao se adicionar o reagente em duas porções de 7,5 %.

Pelos resultados da Figura 32, podemos observar que a adição do metanol em duas etapas favorece a reação, devido ao menor efeito de desativação que o metanol tem, nesta condição, sobre a enzima.

5.2.2 Esterificação homogênea em larga escala para o CTO

Foram utilizadas as condições ótimas obtidas do planejamento de experimentos para um teste industrial em um tanque de 25 m³, onde o CTO foi esterificado utilizando-se o catalisador enzimático homogêneo (lipase – Novozym CALB L), em função do custo elevado da enzima optamos por trabalhar com um teor menor da mesma (0,05%) e não 0,5% como descrito no planejamento de experimentos.

Foram retiradas alíquotas a cada duas horas para a análise do índice de acidez e os resultados estão descritos na Figura 33.

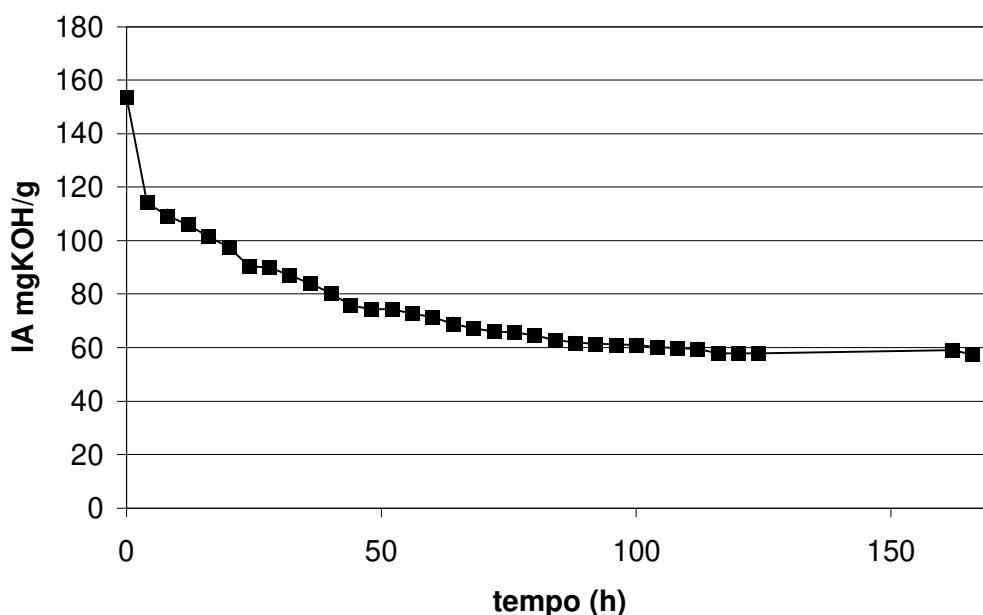


Figura 33: Esterificação contínua do CTO em um tanque de 25 m³ com 0,05 % de enzima, 15 % de metanol, 15 % de água a 24 °C.

Na Figura 33, podemos observar que, após 166 h, o índice de acidez caiu de 153,5 para 57,4 mgKOH/g, indicando a esterificação seletiva dos ácidos graxos presentes no CTO. Este índice de acidez residual (57,4 mgKOH/g) é referente aos ácidos resínicos presentes no CTO. Esta esterificação seletiva foi comprovada pela análise do teor de ácidos resínicos presentes no CTO após a esterificação enzimática, que indicou que somente os ácidos graxos foram esterificados durante a reação.

Este processo possibilita a separação entre os ácidos graxos e os ácidos resínicos livres presentes no CTO, já que com a esterificação seletiva, aumentamos a diferença de ponto de ebulição entre os dois compostos, facilitando a separação de ambos por destilação.

O processo também se mostrou muito eficaz do ponto de vista econômico, pois foram utilizados um tanque e uma bomba convencional para a execução do mesmo, sendo que para a implementação do processo em produção os investimentos em novos equipamentos seriam mínimos.

5.2.3 Catálise enzimática heterogênea

A heterogeneização da lipase facilita a sua aplicação industrial, visto que o catalisador poderia ser facilmente separado e recuperado ao término da reação, permitindo a obtenção de uma maior quantidade de produtos por mol de catalisador.

A enzima (lípase B *Candida Antartica*) foi imobilizada em polipropileno, e foram produzidos dois catalisadores com 0,2 g/g e 0,5 g/g (relação entre a enzima e o polipropileno). O catalisador heterogêneo foi utilizado em várias reações de esterificação em batelada. Os resultados dos vários ciclos reacionais estão descritos na Figura 34.

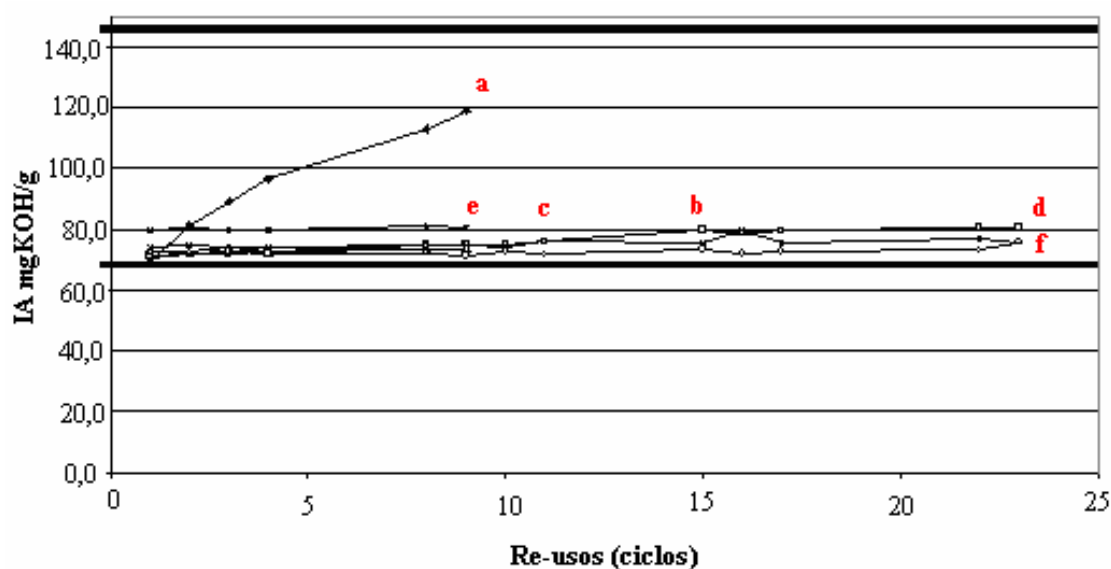


Figura 34: Ciclos reacionais consecutivos para a enzima imobilizada (cada ciclo = 1 dia), com diferentes teores de água e catalisador (**a** - 5% de catalisador 0,5g/g e 0% de água; **b** - 5% de catalisador 0,5g/g e 5% água; **c** - 5% de catalisador 0,5g/g e 10% água; **d** - 5% de catalisador 0,5g/g e 15% água; **e** - 5% de catalisador 0,5 g/g e 10% água/etanol; **f** - 10% de catalisador 0,2 g/g e 10% água), 10% de metanol, 24h de reação a 30°C.

Para o primeiro ciclo reacional, a adição de água tem um pequeno efeito na queda do índice de acidez (após 24 h de reação), com 0 % de água, IA = 69,2; com 5 % de água, IA = 71,3; com 10 % de água, IA = 72,5; e com 15 % de água, IA = 73,9 mgKOH/g. Contudo, observa-se que sem a adição de água ao sistema o catalisador perde a atividade após 10 ciclos reacionais (curva **a**). A adição de 5-15% de água protege o catalisador heterogeneizado da desativação pelo metanol, sendo que a faixa ótima de água está entre 10 e 15 %. Com a adição da água ao sistema reacional, é possível a utilização do catalisador por 23 ciclos reacionais sem perda de atividade. A adição da mistura etanol/água (curva **e**) não apresentou uma queda significativa para o IA do CTO. O catalisador produzido com a relação 0,2 g/g (gramas de catalisador por gramas de polímero), apresentado na curva **f**, foi o que apresentou a melhor relação custo-benefício, já que o custo deste catalisador é menor.

O catalisador heterogêneo foi empacotado em uma coluna, e essa foi utilizada para os experimentos de esterificação contínua. Foram retiradas alíquotas durante a reação para a análise do índice de acidez. Os resultados estão descritos na Figura 35.

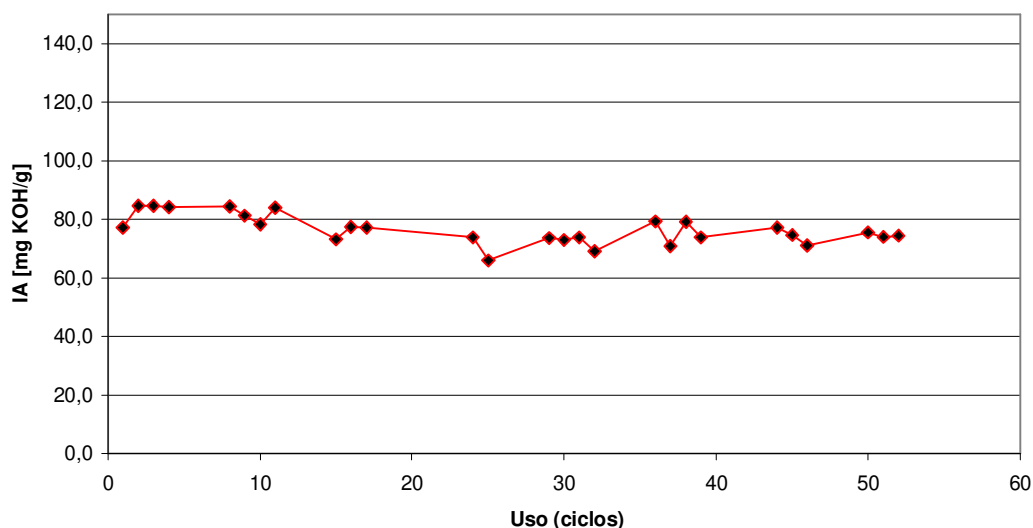


Figura 35: Esterificação contínua do CTO a 35 °C com 10 % de água e 10 % de metanol (cada ciclo = 1 dia).

Pode-se observar que não houve perda de atividade do catalisador com o tempo, com o IA oscilando entre 78 e 84 na maioria dos casos. O catalisador se mostrou estável por mais de 50 dias. A produtividade do catalisador suportado foi de aproximadamente 1.500 g de produto para cada 1 g de catalisador.

5.2.4 Catálise química homogênea

Comparamos a performance do processo enzimático (10 % de metanol/0,05 % de enzima/10 % de água/24 °C/72 h), com a do processo químico (25 % de metanol/0,5 % de ácido metanosulfônico/140 °C/6 bar/2 h). Os resultados são apresentados na Tabela 17.

Tabela 17: Comparação entre a esterificação química e enzimática para o CTO.

Análise	Crude Tall Oil	cto-ee*	cto-ech**
Índice de Acidez mgKOH/g	149,5	74,0	67,9
Índice de Saponificação mgKOH/g	160,1	161,5	155,4
Ácidos Resínicos %	29,6	29,4	29,2
Esteróis livres %	2,8	2,6	0,2
Esteróis totais %	4,5	4,3	4,7

*cto-ee = cto esterificado enzimático (lote HN3E195899)

**cto-ech = cto esterificado químico (lote HN3G278868)

Observou-se que ambos os processos são seletivos para a esterificação dos ácidos graxos presentes no CTO, pois tanto para o processo enzimático como o químico, o teor de ácidos resínicos não sofreu alteração (cto-ee Ácidos resínicos = 29,4 e cto-ech Ácidos resínicos = 29,2), indicando que os mesmos não foram esterificados.

Constatamos também que a esterificação enzimática foi mais seletiva do que a química em relação à esterificação dos esteróis livres, pois na esterificação enzimática (cto-ee) o teor de esteróis livres obtido foi de 2,6 %. Já na esterificação química (cto-ech), o teor de esteróis livres obtido foi de 0,2 %, indicando que ocorreu a esterificação dos esteróis livres, o que não é desejável, pois isto dificulta o processo de purificação.

Com base nos ensaios químicos e enzimáticos, é possível estipularmos que, o processamento via catálise enzimática de 400 tons de CTO, são necessárias 168 h, o que nos dá uma relação de 2,38 ton/h. Já por catálise química para o processamento de 16 tons, são necessárias 8 h, o que acarreta uma relação de 2,0 ton/h de CTO esterificado.

A produtividade do catalisador enzimático também foi melhor em relação ao químico (0,5 kg/ton e 5 kg/ton, respectivamente).

Uma outra vantagem do processo enzimático é a possibilidade de se trabalhar em condições mais brandas de temperatura e pressão, com um menor excesso de metanol.

5.3 Reação dos Esteróis Presentes no CTO com Ácido Bórico

Nesta etapa do projeto, foi realizada a reação dos esteróis presentes no CTO com ácido bórico, para promover a síntese de organoboranos com alta massa molecular, como mostrado na Figura 36.

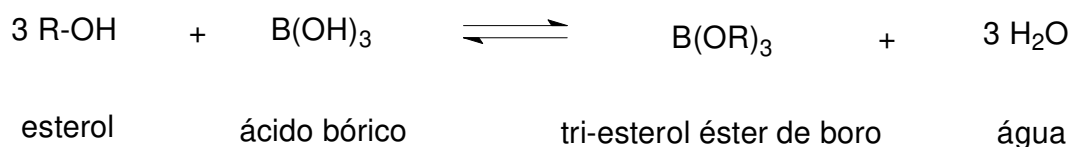


Figura 36: Síntese do tri-esterol éster de boro.

Através desta reação foi possível aumentar a diferença de volatilidade dos ácidos resínicos e dos esteróis presentes no CTO, obtendo-se uma separação melhor e mais eficiente destas substâncias, sem a necessidade de colunas de fracionamento de alta performance e altas temperaturas. Com este processo também foi possível minimizarmos a degradação térmica dos esteróis.

Na Tabela 18 são mostrados os resultados referentes à reação dos esteróis presentes no CTO–Me (onde os ácidos graxos presentes no CTO foram esterificados com metanol) com ácido bórico.

Tabela 18: Resultados para a esterificação dos esteróis presentes no CTO.

Análise	cto-r	cto-r Boro
Índice de Acidez r	107,82	89,85
Esterol Livre %	8,11	0,17
Esterol Total %	11,40	-

cto-r = resíduo da destilação dos ésteres metílicos presentes no CTO

Foi observado que a reação com o ácido bórico ocorreu com sucesso, pois o teor de estero livre inicial caiu de 8,11 % para 0,17 %, indicando uma esterificação com o ácido bórico de 97,9% dos esteróis livres iniciais.

5.4 Fracionamento do CTO

5.4.1 Diagrama proposto para o processo de fracionamento do CTO

Com a otimização do processo enzimático, foi iniciado a otimização do processo de separação dos ésteres metílicos dos ácidos resínicos e dos materiais insaponificáveis.

O diagrama proposto para o processo de fracionamento do CTO está descrito na Figura 37.

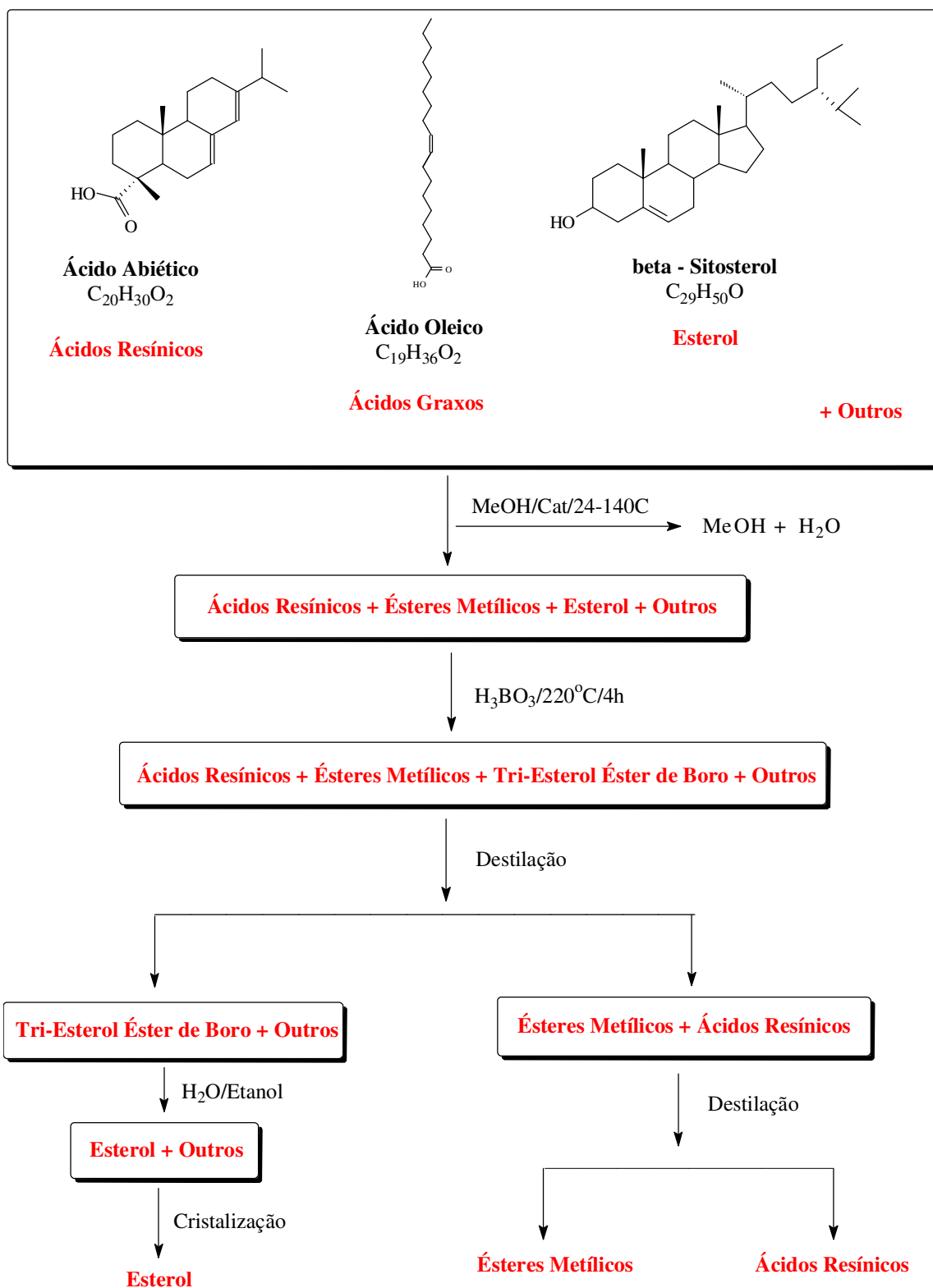


Figura 37: Descrição do processo de separação.

Este processo se baseia no aumento da volatilidade do material graxo (onde os ácidos graxos presentes no CTO foram esterificados seletivamente via catálise química ou enzimática) e na diminuição da volatilidade dos esteróis (através da reação dos esteróis presentes no CTO com ácido bórico, promovendo a síntese de organoboranos com alta massa molecular), em relação aos ácidos resínicos.

Temperaturas moderadas minimizam as reações indesejáveis como a degradação dos esteróis e a decomposição e descarboxilação dos ácidos resínicos. Para a separação dos ésteres metílicos dos ácidos resínicos e das substâncias neutras, utilizam-se colunas de fracionamento. Obtém-se no topo os ésteres metílicos e os ácidos resínicos, e um fundo que é rico em esteróis.

5.4.2 Estudo do efeito da temperatura no teor dos esteróis livres e na degradação térmica desses em uma amostra de CTO

Nesta etapa do projeto, foi estudado o efeito da temperatura na degradação térmica e no teor dos esteróis livres. Os resultados estão mostrados na Figura 38.

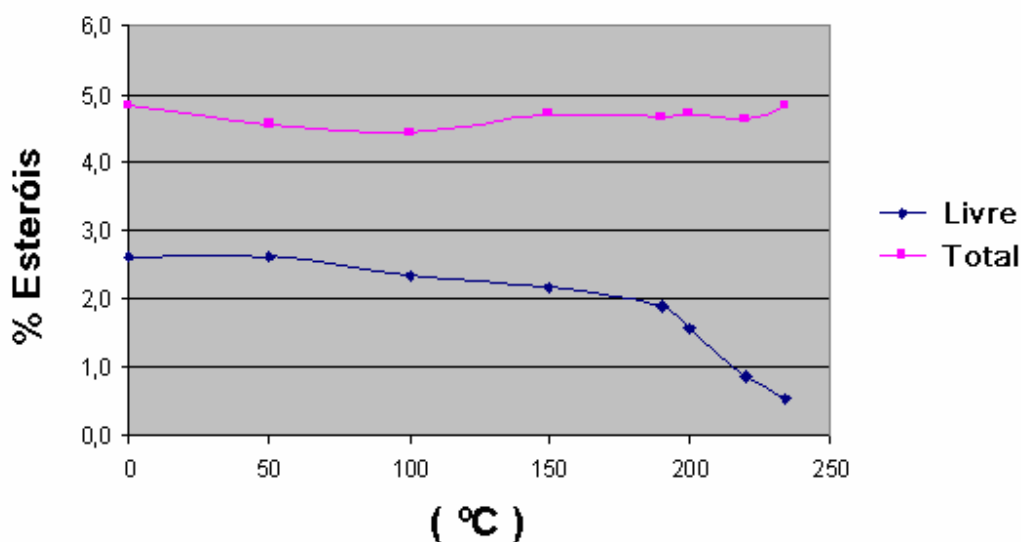


Figura 38: Efeito da temperatura no teor de esterol livre em uma amostra de CTO, aquecida em um balão volumétrico de 2 L por 3h.

Neste experimento, as amostras de CTO foram aquecidas sob agitação em diversas temperaturas.

Pode-se observar pelos resultados que, a partir de 100 °C, ocorre a esterificação dos esteróis livres, já que o teor de esteróis totais não se alterou, ficando em torno de 5 %.

Esse efeito foi mais acentuado a uma temperatura superior a 200 °C, onde os esteróis livres que estavam a 2,8 % inicialmente caíram para 1,8 % e mais uma vez não observamos queda significativa no teor de esteróis totais, indicando que não ocorreu degradação térmica dos mesmos.

Após 3 h de reação, ocorreu uma degradação térmica de 0,4 % dos esteróis, pois o teor de esteróis totais caiu de 4,90 % para 4,88 %.

5.4.3 Fracionamento dos ésteres metílicos do CTO em um evaporador do tipo *thin film*

Para a análise e caracterização dos teores de ácidos resínicos presentes nos ésteres metílicos destilados por CG-EM, foi necessário efetuarmos a metilação dos ácidos resínicos com diazometano. Na Figura 39, apresentamos um cromatograma típico para o CTO metilado.

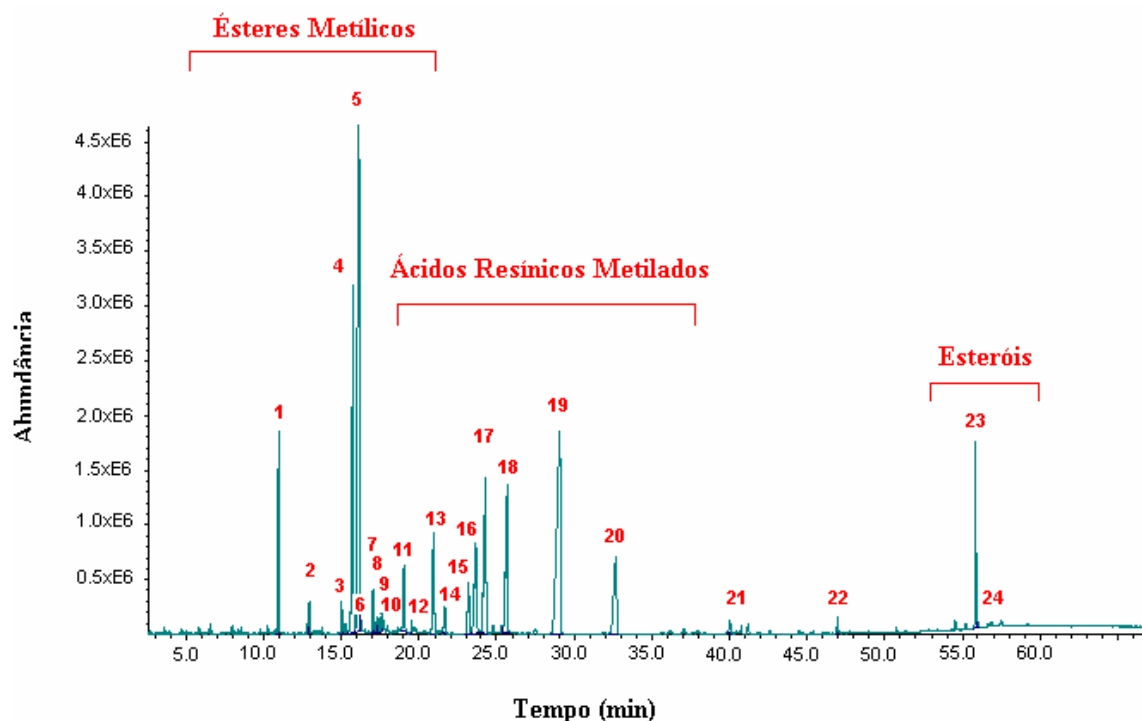


Figura 39: Cromatograma típico para o CTO metilado.

No cromatograma da Figura 39, podemos observar os ésteres metílicos dos ácidos graxos entre os tempos de retenção de 10,95 e 19,02 min, os ésteres metílicos dos ácidos resínicos em 20,92 a 32,65 min e os esteróis em 55,83 a 55,96 min.

Através da metilação dos materiais graxos foi possível caracterizarmos todos os compostos por CG-EM.

Na Tabela 19, apresentamos os resultados (área %) para os compostos presentes no CTO caracterizados por CG-EM:

Tabela 19: Resultados (área %) para os compostos presentes no CTO, caracterizados por CG-EM.

Pico	Tempo de Retenção (min.)	Composto	% Área
1	10,95	Palmitato de Metila	4,16
2	12,92	Hepitato de Metila	0,66
3	14,99	Composto não Identificado	0,78
4	15,74	Linoleato de Metila	13,12
5	16,12	Oleato de Metila	21,09
6	16,22	Oleato de Metila*	0,57
7	17,04	Estearato de Metila	1,20
8	17,26	Linoleato de Metila*	0,45
9	17,38	Linoleato de Metila*	0,38
10	17,59	Linoleato de Metila*	0,47
11	19,02	Linoleato de Metila*	2,38
12	19,53	Composto não Identificado	0,34
13	20,92	Metil Pimarato	3,82
14	21,65	Metil Sandaracopimarato	1,06
15	23,19	Composto não Identificado	2,23
16	23,63	Metil Isopimarato	4,89
17	24,27	Metil Levopimarato	8,02
18	25,66	Metil Dehidroabietato	7,87
19	29,05	Metil Abietato	16,52
20	32,65	Metil Neoabietato	5,32
21	40,03	Composto não Identificado	0,43
22	46,93	Tetracosanoato de Metila	0,36
23	55,83	beta-Sitoesterol	3,40
24	55,96	Estigmaesterol	0,50

* Compostos isomerizados.

Na Figura 40, apresentamos as estruturas para os compostos presentes no CTO caracterizados por CG-EM:

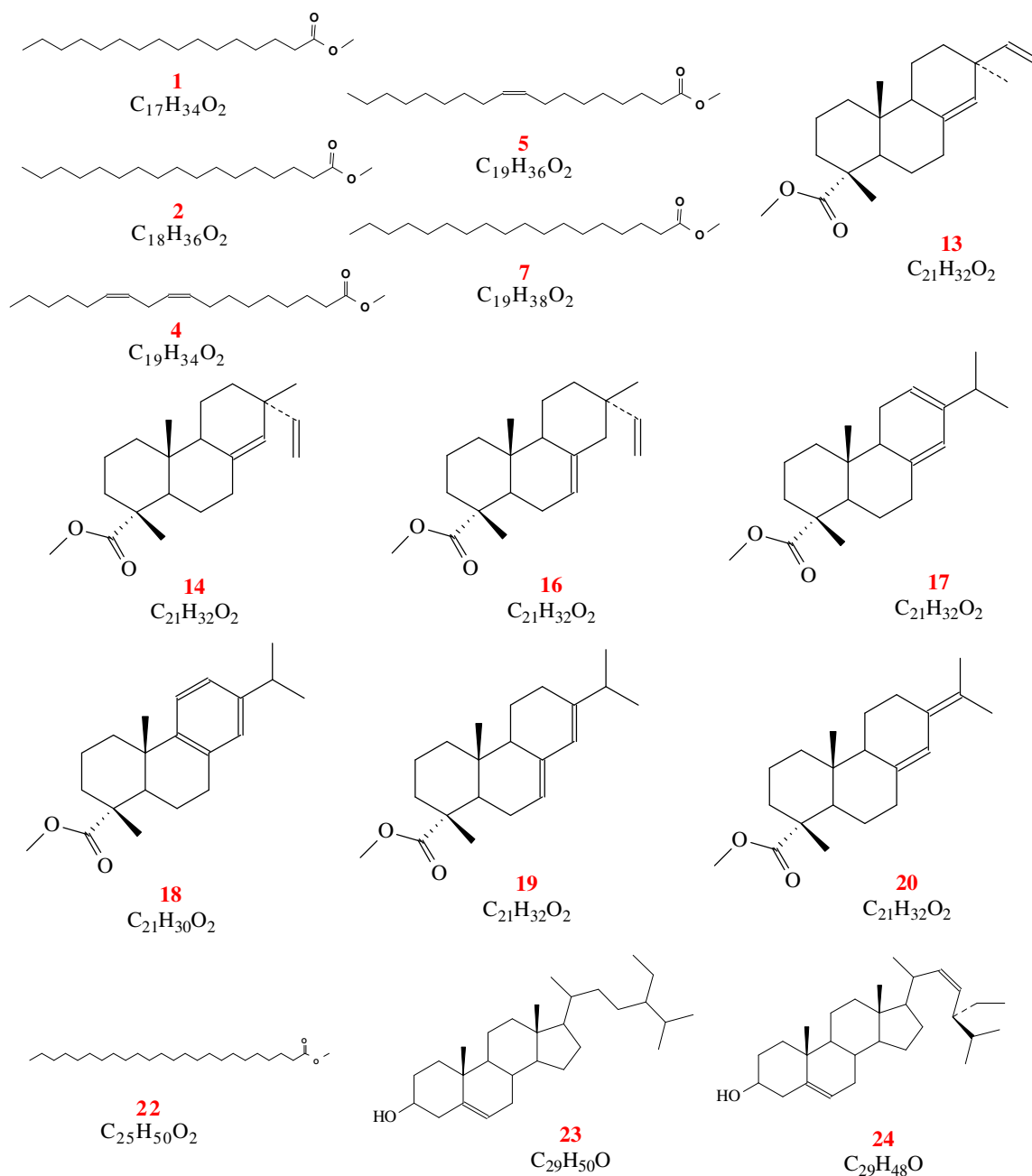


Figura 40: Estruturas para os compostos presentes no CTO caracterizados por CG-EM

O CTO foi destilado a diferentes temperaturas em um evaporador do tipo *Thin film*. Os cromatogramas obtidos para os produtos das destilações estão no Anexo 1.

Os teores para os ácidos resínicos, sitoesteróis e a porcentagem da fração destilada nas diversas temperaturas estão descritos na Figura 41.

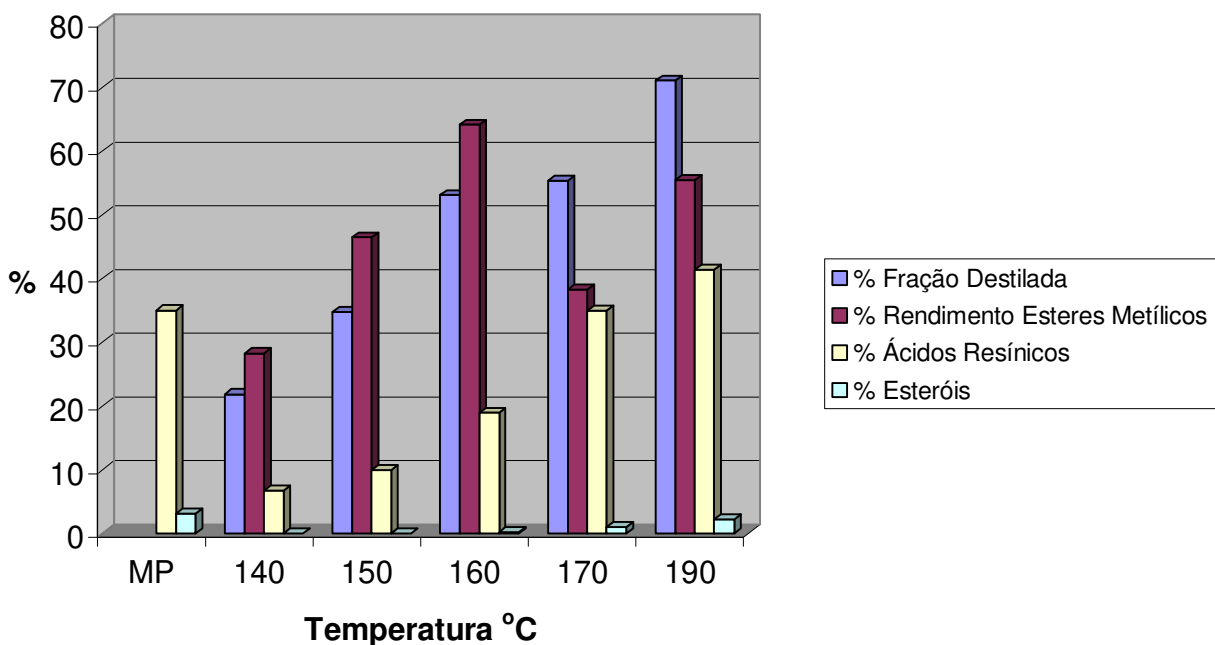


Figura 41: Destilação do CTO esterificado (CTO-Me) em um evaporador do tipo *thin film* sob vácuo a diferentes temperaturas. MP = Matéria Prima, CTO-Me antes da destilação.

Pode-se observar que a melhor condição para a destilação do CTO esterificado foi a 140 °C, quando se obteve uma baixa contaminação pelos ácidos resínicos (6,7 %). Contudo, nesta temperatura, foi obtido apenas 28,24 % de rendimento para os ésteres metílicos destilados.

Neste experimento, após a destilação dos ésteres metílicos, constatou-se que uma faixa de 6 a 40 % do material destilado era constituída por ácidos resínicos, o que demonstrou que esse não é o melhor processo para a separação dos ésteres metílicos do CTO.

Atualmente a metodologia utilizada pela indústria para a análise do teor de ácidos resínicos é a volumetria de neutralização (titulação de ácidos fracos com bases fortes,) ou metodologia O-67, descrita na parte experimental.

Na Figura 42, é mostrada a comparação entre esta metodologia e uma metodologia por cromatografia de fase gasosa.

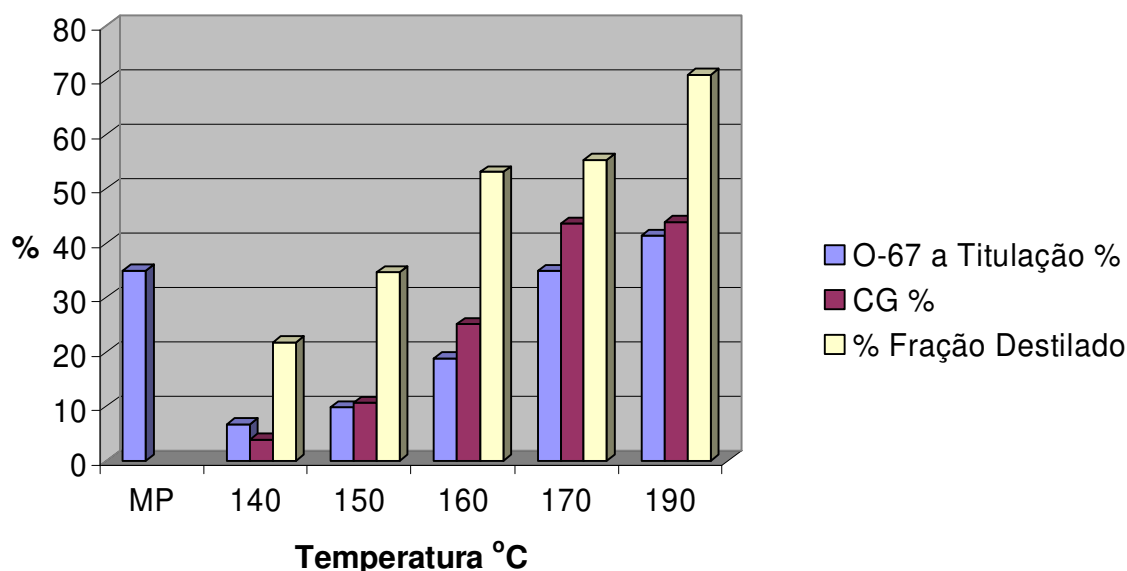


Figura 42: Comparação entre metodologias analíticas para o cálculo do teor relativo de ácidos resínicos por cromatografia de fase gasosa (CG-FID) e por titulação (método O-67a Cognis)

Para amostra produzida a 190 °C, foi obtido um valor de 43,8 % por CG-FID e 41,4 % por análise volumétrica, para a amostra produzida a 170 °C, os valores obtidos foram 43,6 % por CG-FID e 38,2 % volumetria. Isto indica a viabilidade da metodologia por cromatografia de fase gasosa.

Estes desvios podem ser minimizados utilizando-se a metodologia por padronização interna e a construção de curvas de calibração para a análise por cromatografia de fase gasosa.

5.4.4 - Fracionamento dos ésteres metílicos do CTO em uma coluna de destilação

Foram enviados 500 kg de CTO esterificado enzimaticamente para a fábrica da Cognis em Duesseldorf na Alemanha, onde o processo de destilação foi otimizado utilizando-se uma coluna de destilação piloto, com aproximadamente 18 pratos teóricos, sem refluxo e sob vácuo de 1 mbar. A temperatura do reator que

alimentou a coluna foi de 220 °C e a temperatura do topo da coluna foi de 140 a 150 °C. Os resultados desse fracionamento estão na Tabela 20.

Tabela 20: Resultado do fracionamento do CTO em uma coluna de destilação piloto.

Amostra	Ácidos Resínicos Totais por CG/EM	Índice de Acidez mgKOH/g
Amostra 1: CTO - Esterificado	47,4 %	73,3 %
Amostra 2: CTO - Segunda Fração	72,3 %	90,4 %
Amostra 3: CTO - Éster Metílico	0	3,9 %

A amostra 1 é referente ao material de partida, as amostras 2 e 3 são referentes aos ésteres metílicos e ácidos resínicos destilados.

Na Figura 43, tem se o cromatograma obtidos para as amostras 1.

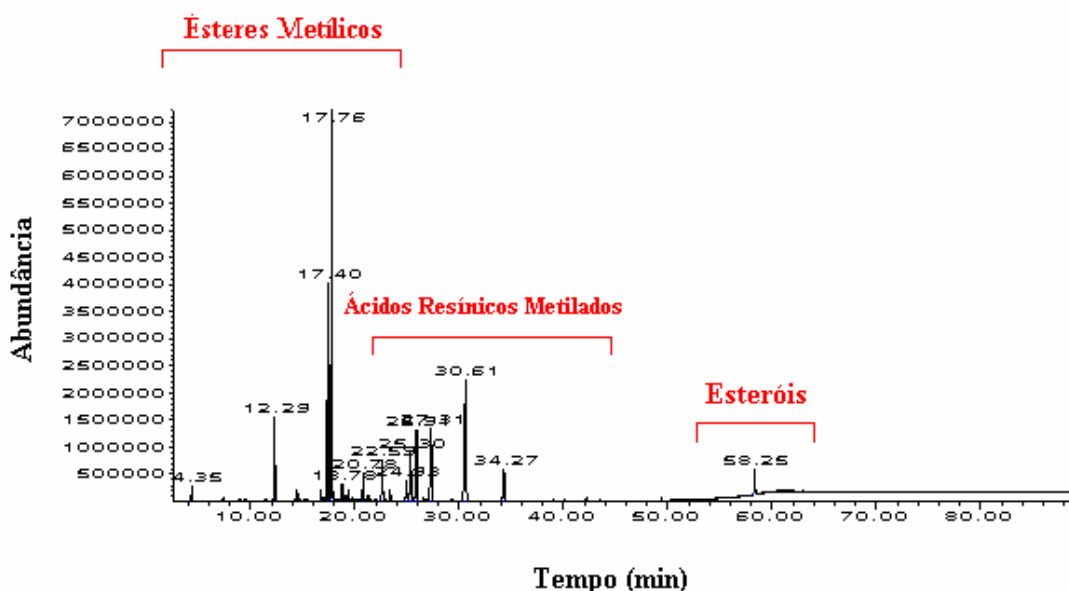


Figura 43: Cromatograma para a destilação dos ácidos resínicos do CTO - amostra 1.

Na Figura 43, temos o cromatograma para a amostra de partida (CTO esterificado). Neste cromatograma os ésteres metílicos estão no tempo de retenção de 4,35 a 17,76 min, os ácidos resínicos metilados por diazometano

estão no tempo de retenção de 18,2 a 34,27 min, já os esteróis estão no tempo de retenção de 58,25 min.

Na Figura 44, tem-se o cromatograma obtido para a amostra 2.

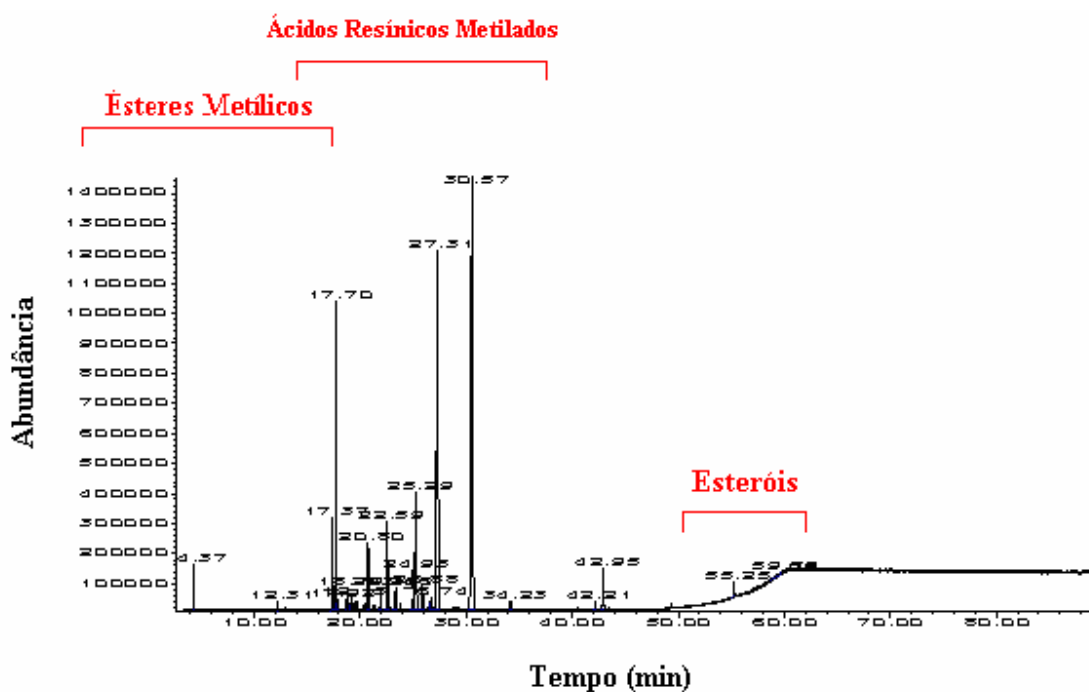


Figura 44: Cromatograma para a destilação dos ácidos resínicos do CTO - amostra 2.

Nesse cromatograma, foi observado um alto teor de ácidos resínicos; contudo, foi constatada a presença de ésteres metílicos dos ácidos graxos (no tempo de retenção de 4,37 a 17,70 min) como contaminante.

Na Figura 45, apresentamos o cromatograma obtido para a amostras 3.

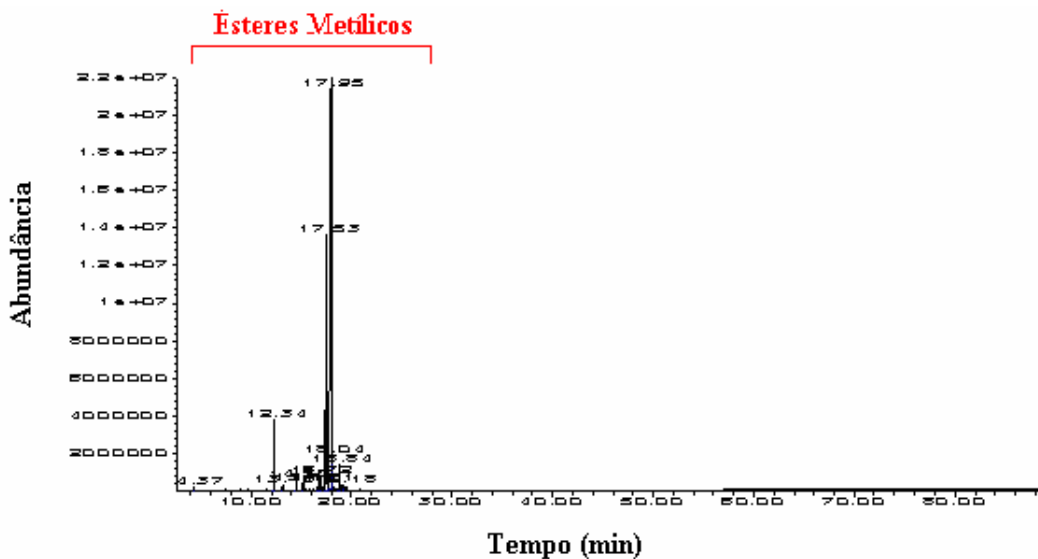


Figura 45: Cromatograma para a destilação dos ésteres metílicos do CTO - amostra 3.

Foi observado no cromatograma apresentado na Figura 45, que com este processo, foi possível obter um éster metílico isento de contaminação por ácidos resínicos.

Na Tabela 21 temos os resultados analíticos obtidos para a amostra 3, proveniente do fracionamento do CTO em uma coluna de destilação.

Tabela 21: Resultados analíticos obtidos para a amostra 3, proveniente do fracionamento do CTO em uma coluna de destilação.

Análise	Amostra 3
Distribuição Graxa (%)	
C14:0	0,1
C14:1	0,1
C15:0	0,1
C16:0	4,9
C16:1	0,3
C17:0	0,2
C18:0	2,0
C18:1	58,6
C18:2	29,4
Índice de Saponificação mgKOH/g	174,6
Matéria Insaponificável (%)	4,3
Índice de Iodo gI2/100g	112,2
Índice de Áidez mgKOH/g	3,9

Com este novo processo, foi obtido um éster metílico com alto grau de pureza (Tabela 21) isento de contaminação por ácidos resínicos. Com esse grau de pureza, os ésteres metílicos provenientes do CTO podem ser utilizados como plastificantes para PVC, na produção de amidas graxas, na produção de surfactantes aniônicos, na produção de ésteres diméricos, etc.⁽²⁹⁾

5.4.5 Caracterização dos Ácidos Resínicos concentrados (amostra 2), obtidos do processo de fracionamento do CTO

Os resultados das análises por CG-EM para os ésteres metílicos dos ácidos resínicos caracterizados nas amostras de CTO são mostrados no Anexo 2, e estão de acordo com os dados de literatura.⁽³⁾ Os altos teores de ácido de-hidroabiético encontrados são desejáveis para a aplicação dos ácidos resínicos na fabricação de resinas, pois este apresenta uma estabilidade térmica maior do que os outros ácidos resínicos.

No processo de purificação por destilação foi obtido um ácido resínico com 72,3 % de pureza (dados amostra 2 Tabela 20). Para a sua aplicação industrial, é necessário um produto com um teor mais alto de pureza (min. 98 %) e isso pode ser obtido através de um processo de purificação por cristalização, o que será objeto de um trabalho futuro do grupo de pesquisa da Cognis Brasil.

Os ácidos resínicos puros podem ser utilizados na fabricação de ésteres de ácidos resínicos com glicerina ou pentaeritritol. Esses ésteres são utilizados na fabricação de resinas e adesivos industriais.^(56,57)

5.4.6 Concentração dos fitoesteróis após reação com ácido bórico utilizando-se um evaporador do tipo *Thin film*

Nesta etapa do processo, promovemos a concentração dos esteróis presentes no CTO após a esterificação enzimática. Os resultados analíticos para esta a esterificação enzimática são apresentados na Tabela 22.

Tabela 22: Resultados analíticos para a esterificação enzimática do CTO.

Análise	CTO	CTO-Me
Índice de Acidez mgKOH/g	153,32	71,18
índice de Saponificação mgKOH/g	157,17	-
Insaponificáveis %	13,70	-
Esterol Livre %	4,21	3,58
Esterol Total %	4,70	4,42
Ácidos Resínicos %	32,92	32,30
Índice de Iodo $\text{gl}_2/100\text{g}$	146,55	-
Água %	1,26	-

CTO-Me = CTO esterificado com metanol. (15 % metanol/10 % água/0,05 % enzima/72 h).

O índice de acidez caiu de 153,32 mgKOH/g para 71,18 mgKOH/g após a esterificação enzimática com metanol; contudo, o teor de ácidos resínicos livres não sofreu uma alteração significativa, já que o teor inicial foi de 32,92 % e após a esterificação enzimática, este ficou em 32,2 %, indicando que o processo foi seletivo para a esterificação dos ácidos graxos presentes no CTO.

O CTO esterificado foi inicialmente fracionado a 190 °C (Etapa 1). Utilizamos o resíduo da primeira destilação para a reação com o ácido bórico sendo o mesmo posteriormente fracionado a 240 °C (Etapa 2).

5.4.6.1 Etapa 1 Destilação *Thin film* a 190°C.

Os resultados analíticos para o fracionamento do CTO-Me em um evaporador do tipo *Thin film* a 190 °C estão na Tabela 23.

Tabela 23: Destilação do CTO-Me em um evaporador do tipo *Thin film* a 190 °C

Análise	tofa-me 1	cto-r
Índice de Acidez mgKOH/g	29,7	96,3
índice de Saponificação mgKOH/g	168,6	148,8
Insaponificáveis %	5,2	16,0
Esterol Livre %	0,4	6,9
Esterol Total %	0,1	9,5
Ácidos Resínicos %	10,7	45,6
Índice de Iodo $gI_2/100g$	133,2	-
Destilado (TOPO) %	46,7	-
Resíduo (FUNDO) %	-	53,3
Esterol Teórico Esperado %	0,0	8,8
Perda de Esterol %	1,4	0,0

tofa-me 1 = Fração destilado (topo) CTO-Me via *thin film* (temperatura = 190 °C; vácuo = 1 mmHg; agitação = 50 rpm; vazão = 900 mL/h).

cto-r = Fração resíduo (fundo) CTO-Me via *thin film* (temperatura = 190 °C; vácuo = 1 mmHg; agitação = 50 rpm; vazão = 900 mL/h).

Foi observado pelos dados da Tabela 23, que não ocorreu perda significativa de esteróis nesta etapa do processo (Etapa 1: destilação a 190 °C); observou-se uma perda de 1,4 % do esterol para o destilado TOFA-Me 1.

Foi obtido um ligeiro aumento da relação entre esterol livre e total, o que indica que durante a destilação ocorreu a esterificação parcial do esterol livre.

Pode-se observar que o éster metílico destilado (TOFA-Me 1) apresentou contaminação com os ácidos resínicos (10,7 %) e materiais insaponificáveis (5,2 %).

5.4.6.2 Etapa 2 Destilação *Thin film* a 240°C.

O CTO-R foi esterificado com ácido bórico (3 h/ 220 °C/ 600 mmHg), sendo posteriormente fracionado em um evaporador do tipo *Thin film*.

Os resultados analíticos para o fracionamento do CTO-R em um evaporador do tipo *Thin film* a 240 °C estão na Tabela 24.

Tabela 24: Destilação do CTO-R em um evaporador do tipo *Thin film* a 240 °C

Análise	tofa-me 2	cto-rr
Índice de Acidez mgKOH/g	125,2	22,5
Índice de Saponificação mgKOH/g	164,8	95,1
Insaponificáveis %	6,8	14,5
Esterol Livre %	0,4	1,8
Esterol Total %	0,5	22,3
Ácidos Resínicos %	52,7	13,9
Índice de Iodo $gI_2/100g$	150,4	-
Destilado (TOPO) %	65,0	-
Resíduo (FUNDO) %	-	35,0
Esterol Teórico Esperado %	0,0	25,2
Perda de Esterol %	3,4	11,5

tofa-me 2 = Fração resíduo (topo) cto-r boro via *thin film* (temperatura = 240° C; vácuo = 1 mmHg; agitação = 50-60 rpm; vazão = 800 mL/h).

cto-rr = Fração resíduo (fundo) cto-r boro via *thin film* (temperatura = 240° C; vácuo = 1 mmHg; agitação = 50-60 rpm; vazão = 800 mL/h).

Através dos dados da Tabela 24 pode-se observar que ocorreu um pequeno arraste de esteróis nos ácidos resínicos destilados (aprox. 3,4 %).

Com este processo obteve-se um resíduo com aproximadamente 22,3 % de esteróis totais.

A degradação e perda de esterol nos destilados no processo todo ficou em cerca de 11,5 %.

5.4.6.3 Caracterização dos esteróis concentrados, obtidos do processo de fracionamento do CTO

O resíduo de destilação dos ácidos graxos e dos ácidos resínicos, obtido através do processo enzimático, apresentou um alto teor de esteróis livres (1,8 %) e esteróis esterificados (22,3 %). Foi desenvolvido um novo processo para a purificação destes esteróis que está sendo patenteado pela Cognis Brasil.

Na Figura 46, é apresentado um cromatograma para o esterol cru proveniente do *pitch* purificado do *Tall Oil* antes da cristalização.

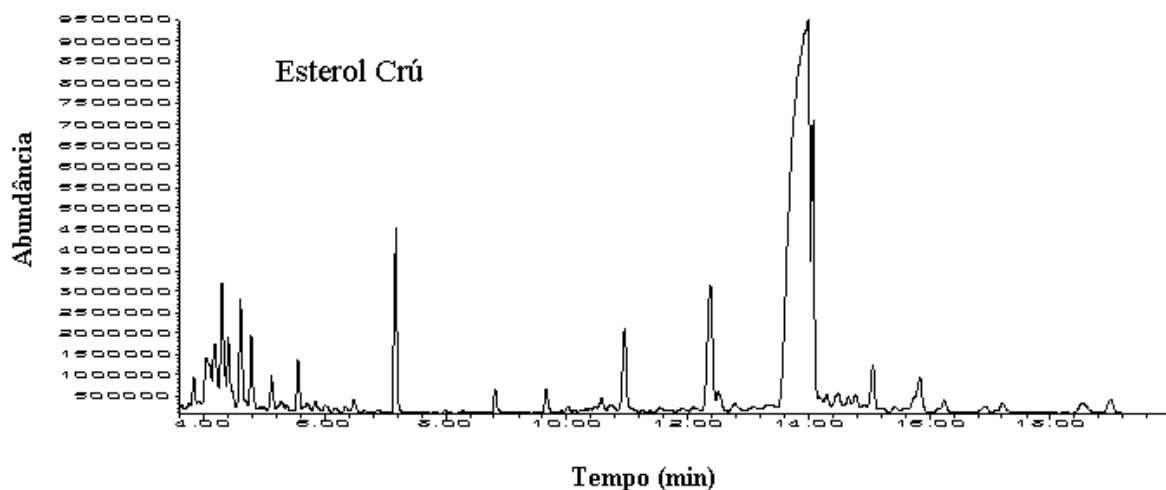


Figura 46: Cromatograma para o *pitch* purificado do CTO.

Na Figura 47, é apresentado um cromatograma para os fitoesteróis purificados (98% de pureza) obtido após a cristalização dos esteróis provenientes do CTO.

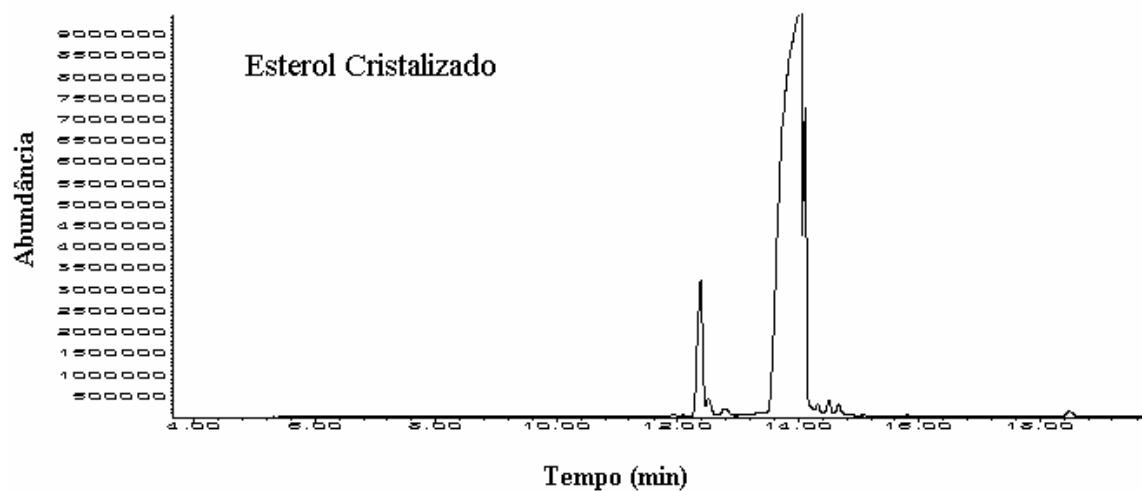


Figura 47: Cromatograma fitoesterol cristalizado.

Pode-se observar pelos resultados apresentados na Figura 47, que o processo de cristalização para a purificação dos esteróis foi bem sucedida, já que os picos dos contaminantes (nos tempos de retenção de 4,0 a 11,0 min)

desapareceram, restando apenas dois picos em 12,5 e 14,0 min referentes aos esteróis.

Obteve-se uma amostra com 98% de pureza em relação aos esteróis (dados obtidos por CG-FID utilizando a metodologia analítica descrita no item 4.9.3).

Os resultados das análises por CG-EM para os esteróis caracterizados nas amostras de CTO cristalizado, são mostrados no Anexo 3, e estes estão de acordo com os dados de literatura.⁽³⁾

Os esteróis analisados apresentaram um alto teor de beta-sitoesterol, que é o principal fitoesterol utilizado para o combate à hipercolesterolemia.⁽⁷⁶⁾

O processo de cristalização para a purificação dos fitoesteróis presentes no CTO e no *pitch* foi patenteado pela Cognis na Alemanha.

O processo de esterificação seletiva e de fracionamento do CTO foi patenteado pela Cognis do Brasil, as patentes estão anexadas no Anexo 4.

Capítulo 6: Conclusões

A transformação seletiva da matéria graxa do CTO em ésteres metílicos, através da catálise homogênea enzimática ou química foi efetuada com sucesso, pois todo o material graxo foi esterificado. Constatou-se através do teor de ácidos resínicos livres que não ocorreu a esterificação dos mesmos, indicando que tanto o processo enzimático como o processo químico são seletivos para a esterificação dos ácidos graxos.

A reação de esterificação enzimática homogênea foi estudada utilizando-se um planejamento fatorial 2^5 com um ensaio em triplicata no ponto central. Os fatores estudados foram o tempo de reação (h), a temperatura da reação ($^{\circ}\text{C}$), o teor de catalisador (%), o teor de metanol (%) e o teor de água (%). Com o aumento da temperatura de 24 para 60 $^{\circ}\text{C}$, houve uma redução na taxa de conversão de 26,6 % e o aumento da percentagem de metanol de 5 para 15 % também apresentou um efeito negativo na taxa de conversão, de 13,1 %. Isso indicou uma inativação térmica (com o aumento da temperatura) e uma inativação do sítio ativo da enzima pelo metanol. O aumento da porcentagem de água de 0 para 15 % e do tempo de reação de 6 para 24 h apresentou um aumento de 31,2 e de 8,1 %, respectivamente, para a conversão. A interação entre a água e o metanol apresentou um efeito positivo de 22,5 % no aumento da conversão, e a interação entre o tempo, a temperatura e o metanol apresentou um efeito negativo de 9,1 % para a conversão dos ácidos graxos em ésteres metílicos.

Observou-se que a adição do metanol em duas etapas favorece a reação. Isso se deve ao efeito de desativação que o metanol tem sobre a enzima.

A melhor condição para altos teores de conversão seria efetuar a reação à baixa temperatura (24 $^{\circ}\text{C}$) com altos teores de água (10 a 15 %) e metanol (10 a 15 %). O limitante neste caso seria a diminuição da produtividade devido à diluição do sistema.

O catalisador enzimático foi imobilizado em polipropileno. Foram produzidos dois catalisadores heterogêneos com 0,2 g/g e 0,5 g/g, sendo que a relação 0,2 g/g foi a que apresentou a melhor relação custo-benefício para as reações em

batelada. O catalisador heterogêneo foi empacotado em uma coluna, e essa foi utilizada para os experimentos de esterificação contínua. O catalisador se mostrou estável por mais de 50 dias. A produtividade do catalisador suportado foi de aproximadamente 1500 g de produto para cada 1 g de catalisador. Contudo, o processo de esterificação enzimática homogênea requer um menor investimento para a sua implementação em produção, já que para a implementação do processo heterogêneo contínuo, seria necessária a construção de uma coluna (em escala industrial), empacotada com a enzima suportada.

O CTO esterificado sofreu posterior reação com ácido bórico, sendo inicialmente fracionado em um evaporador do tipo *thin film*. O resíduo obtido apresentou um alto teor de esteróis livres (1,83 %) e esteróis esterificados (22,31 %).

A fração leve do CTO esterificado foi fracionada em uma coluna de destilação piloto, e com este novo processo, obtivemos um éster metílico com alto grau de pureza, isento de contaminação por ácidos resínicos. No processo de purificação por destilação, obtivemos um ácido resínico com 72,3 % de pureza.

O processo de esterificação seletiva e de fracionamento do CTO foi patenteado pela Cognis do Brasil.

Anexo 1:

Cromatogramas dos ésteres metílicos provenientes da destilação do
CTO a diferentes temperaturas

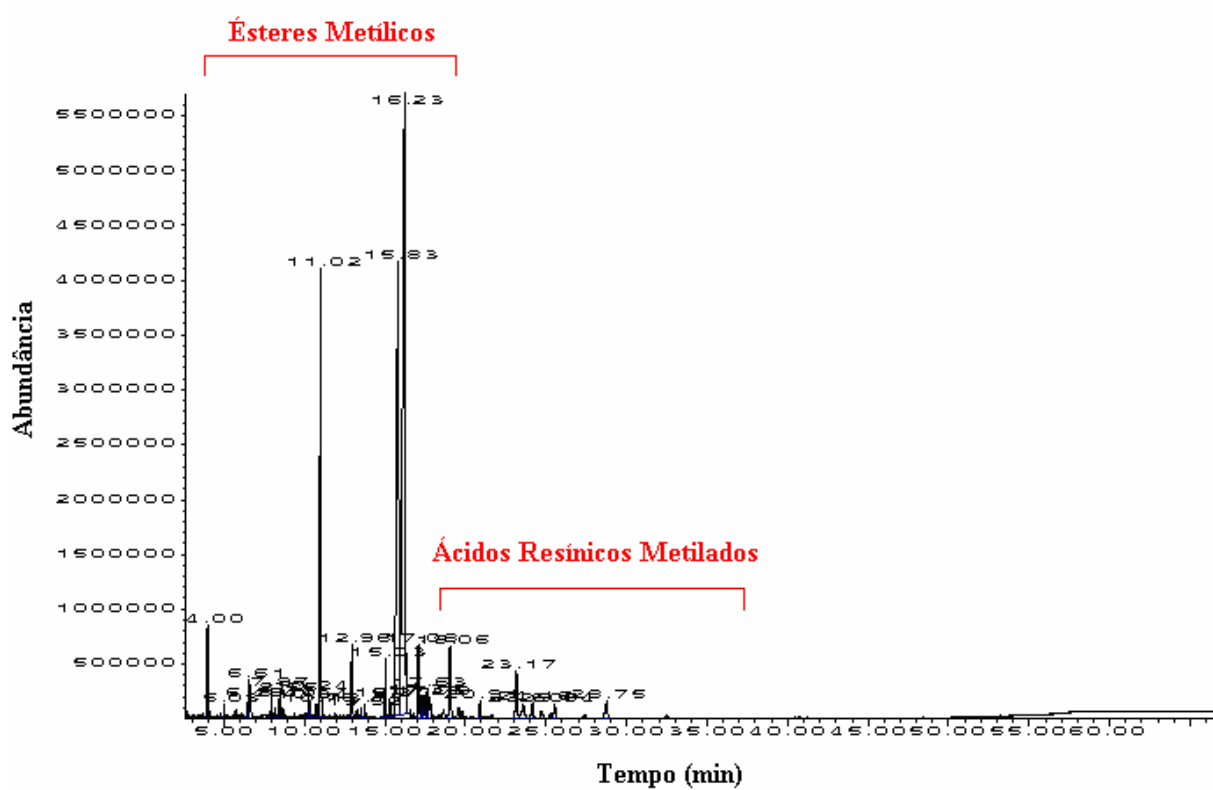


Figura 48: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 140°C.

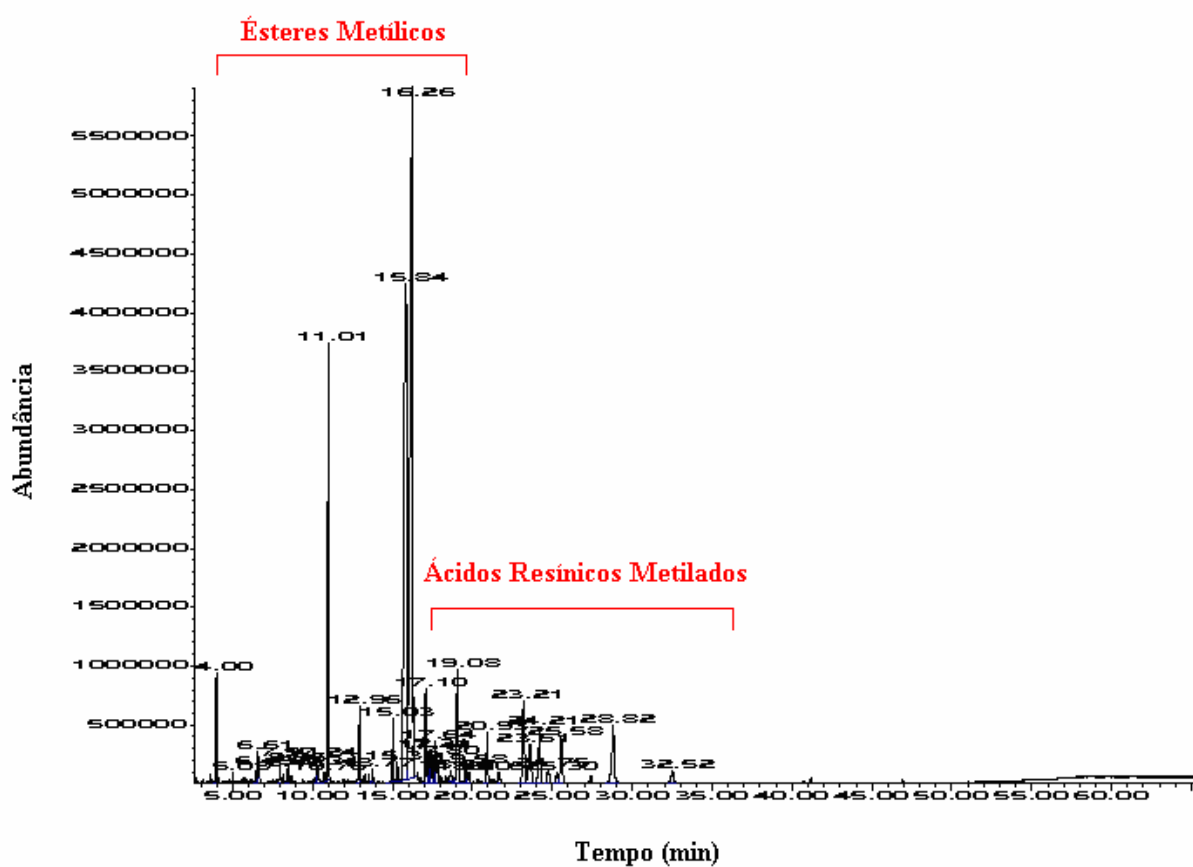


Figura 49: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 150°C

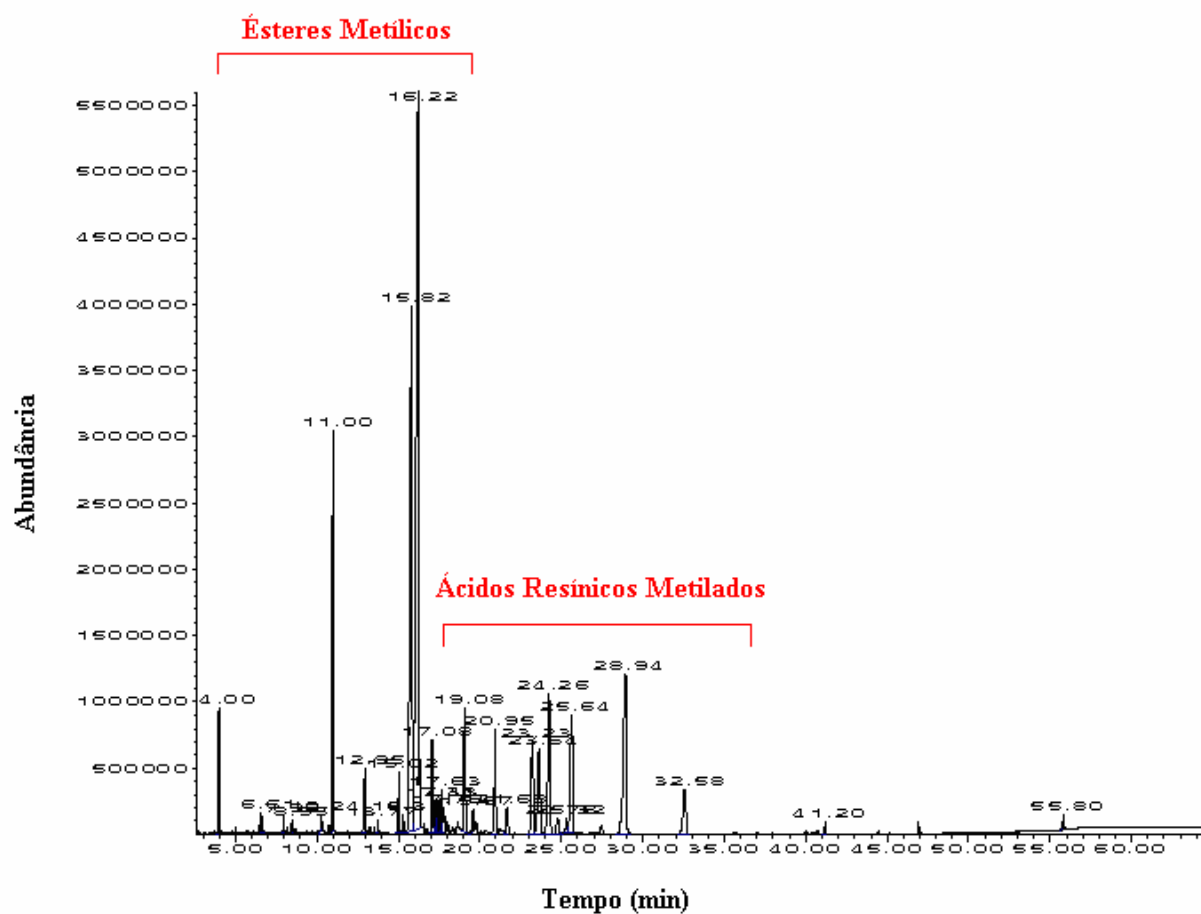


Figura 50: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 160°C

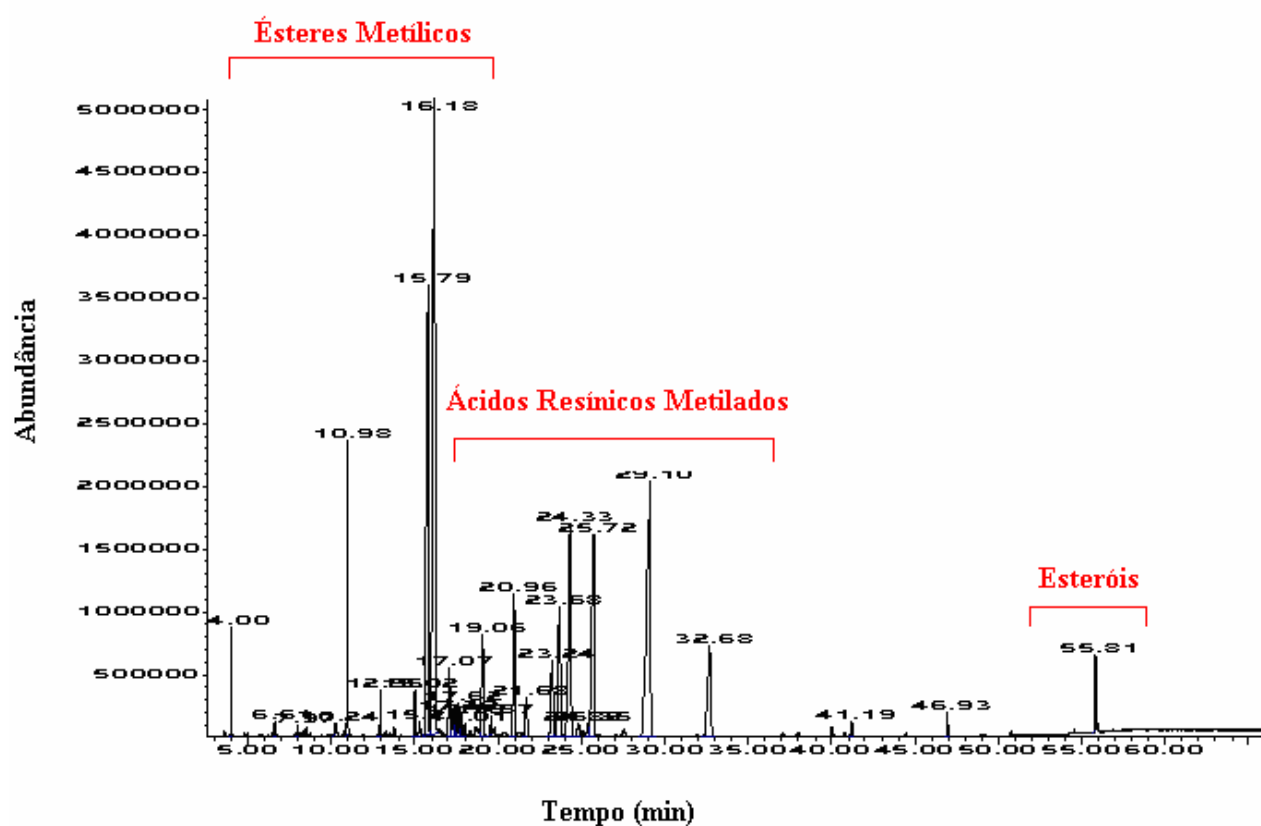


Figura 51: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 170°C

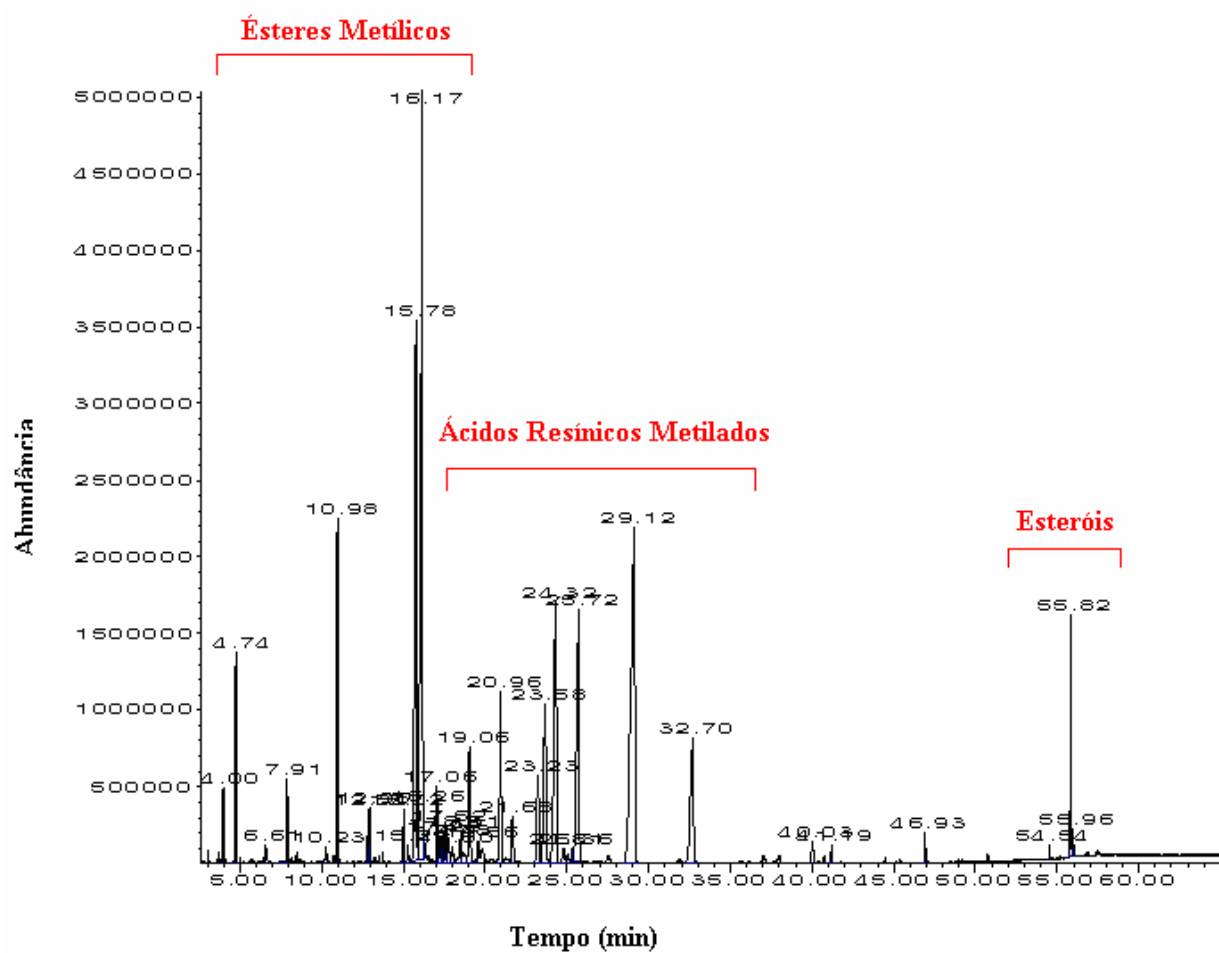


Figura 52: Cromatograma dos ésteres metílicos provenientes da destilação do CTO a 190°C

Anexo 2:

Caracterização por CG-EM dos Ácidos Resínicos concentrados,
obtidos do processo de fracionamento do CTO

Na figura abaixo, é apresentado o cromatograma para uma amostra com alto teor de ácidos resínicos (72,3 %), obtidos após a esterificação enzimática e o posterior fracionamento do CTO, amostra 2 da Tabela 19.

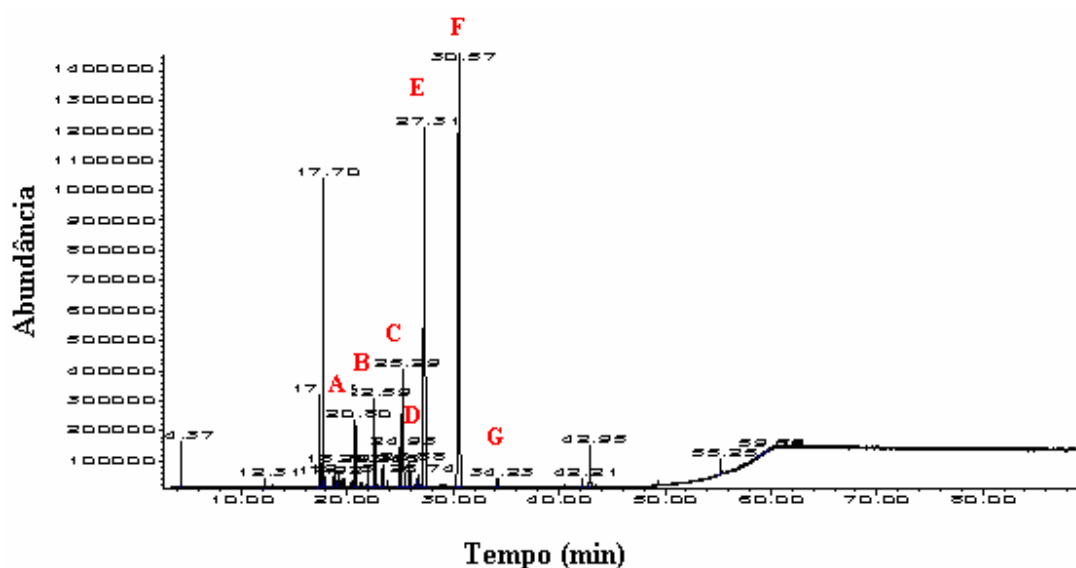
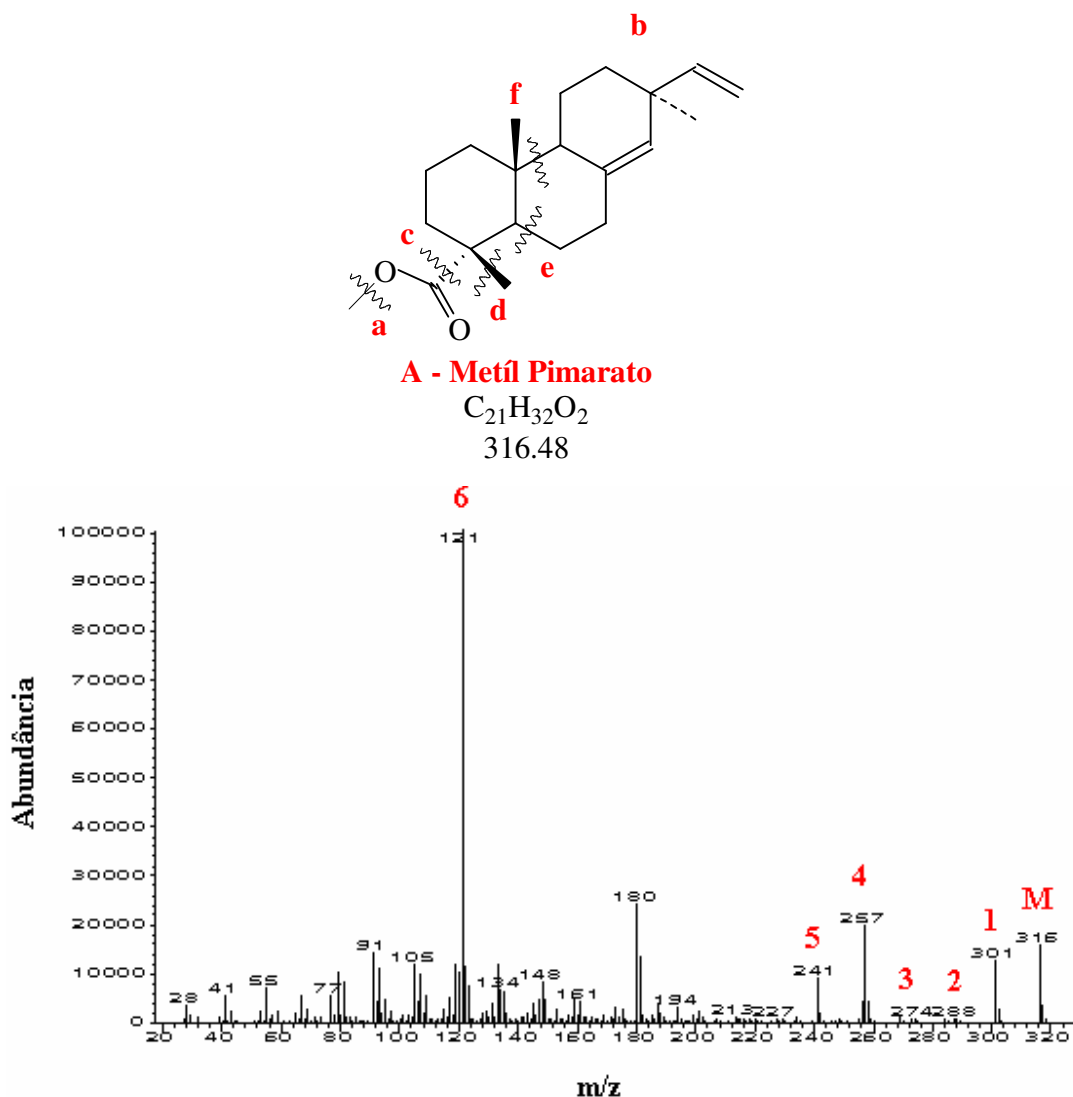


Figura 53: Cromatograma para uma amostra com alto teor de ácidos resínicos.



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 288$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

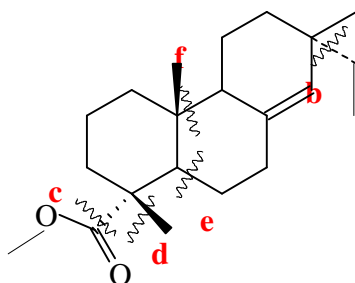
3 = fragmento $m/z = 274$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(b)**.

4 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

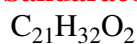
5 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

6 = fragmento $m/z = 121$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**, **(f)** e **(b)**.

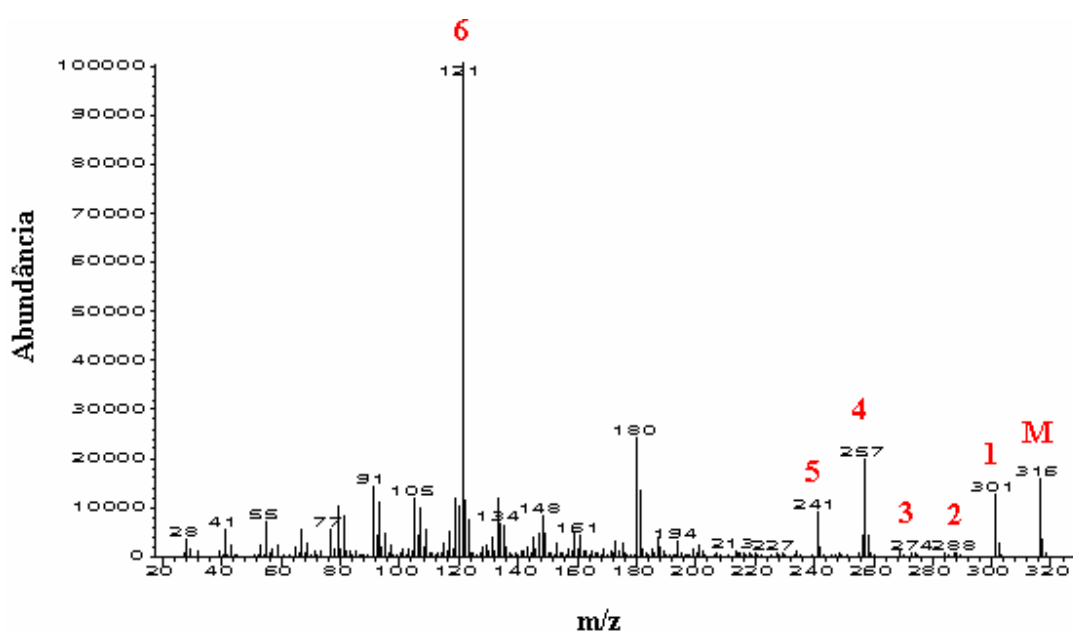
Figura 54: Espectro de massa do metil pimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.



B - Metil Sandaracopimarato



316.48



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 288$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

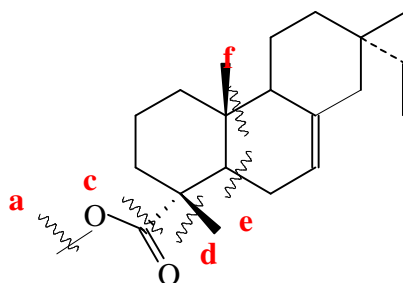
3 = fragmento $m/z = 274$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(b)**.

4 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

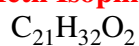
5 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

6 = fragmento $m/z = 121$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**, **(f)** e **(g)**.

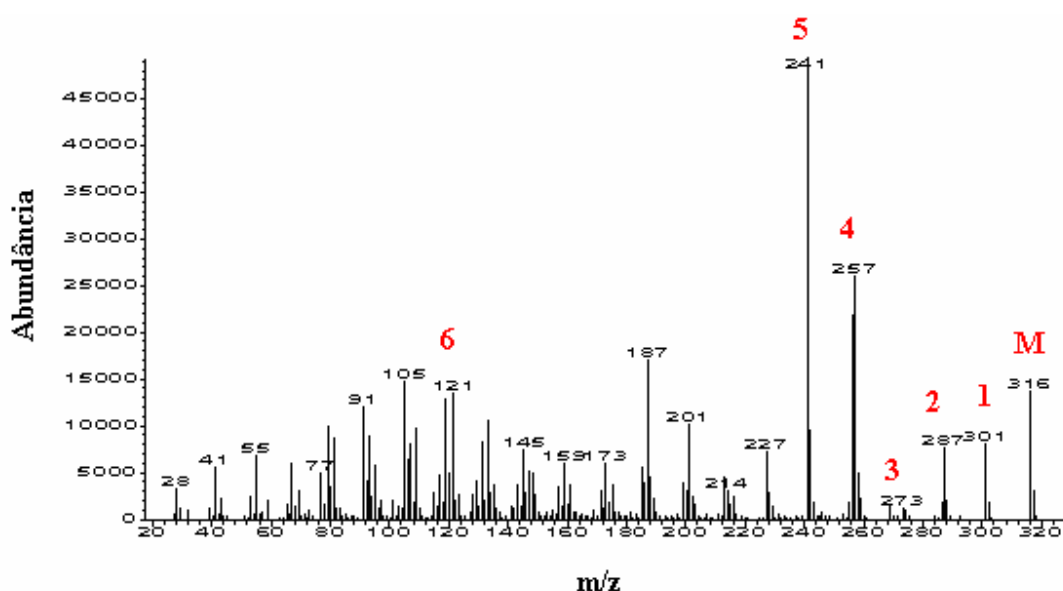
Figura 55: Espectro de massa do metil sandaracopimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.



C - Metil Isopimárate



316.48



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 287$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

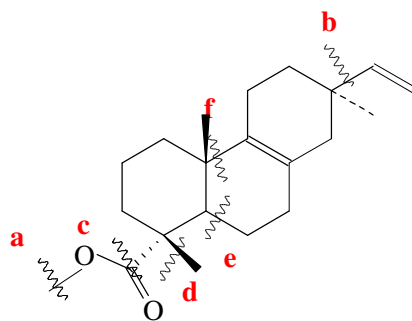
3 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(b)**.

4 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

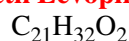
5 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

6 = fragmento $m/z = 121$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**, **(f)** e **(g)**.

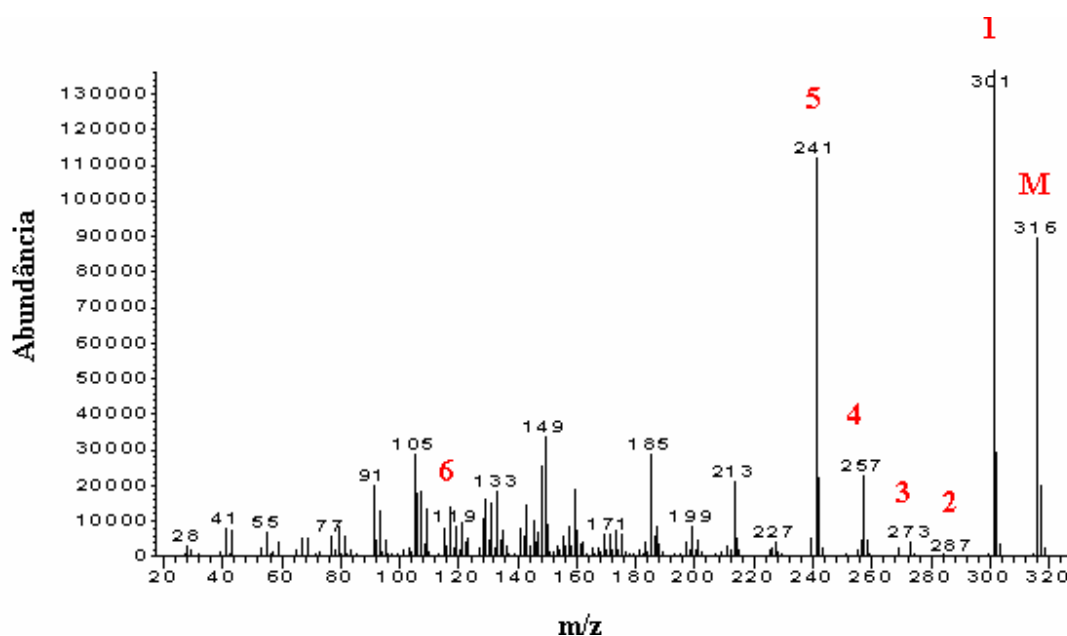
Figura 56: Espectro de massa do metil isopimarato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.



D - Metil Levopimarato



316.48



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 287$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

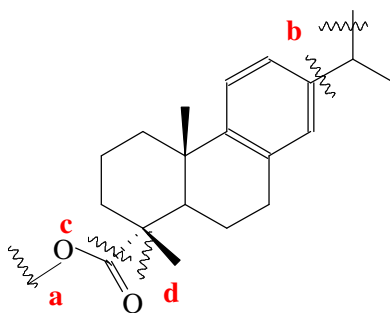
3 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(b)**.

4 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

5 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

6 = fragmento $m/z = 119$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**, **(f)** e **(g)**.

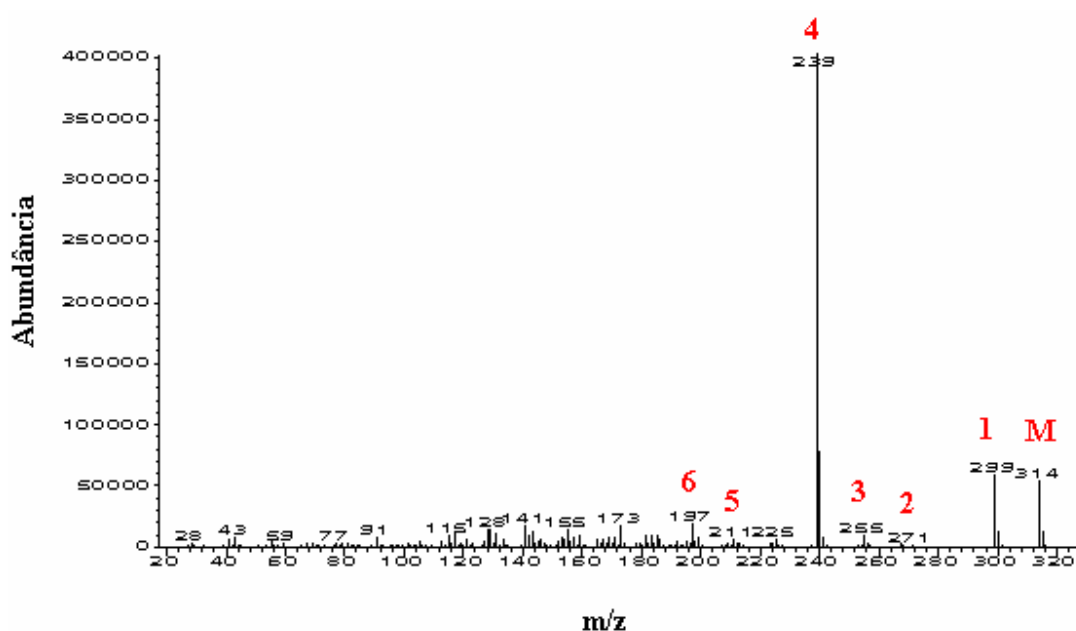
Figura 57: Espectro de massa do $\text{C}_{21}\text{H}_{32}\text{O}_2$ proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.



E - Metil Dehidroabietato

$C_{21}H_{30}O_2$

314.46



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 299$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 271$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

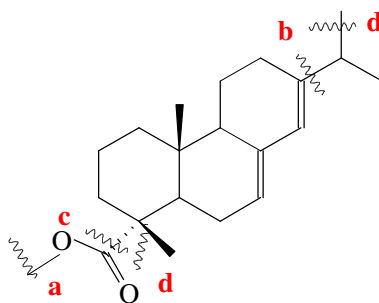
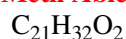
3 = fragmento $m/z = 255$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

4 = fragmento $m/z = 239$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

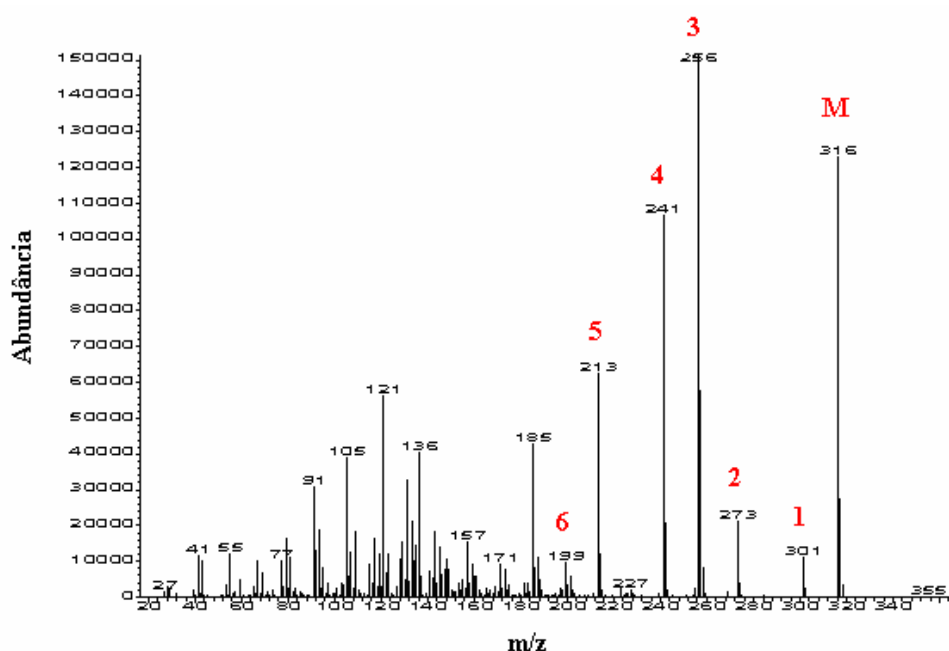
5 = fragmento $m/z = 211$, correspondente à fragmentação da molécula em **(b)** e **(c)**.

6 = fragmento $m/z = 197$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**, **(b)** e **(d)**.

Figura 58: Espectro de massa do metil dehidroabietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.

**F - Metil Abietato**

316.48

**M** = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(b)**.

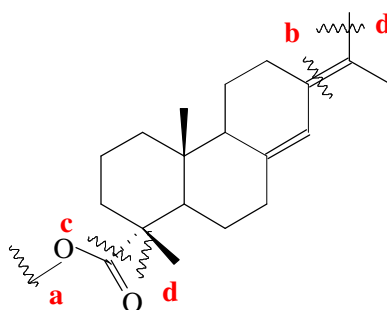
3 = fragmento $m/z = 256$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

4 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(d)**.

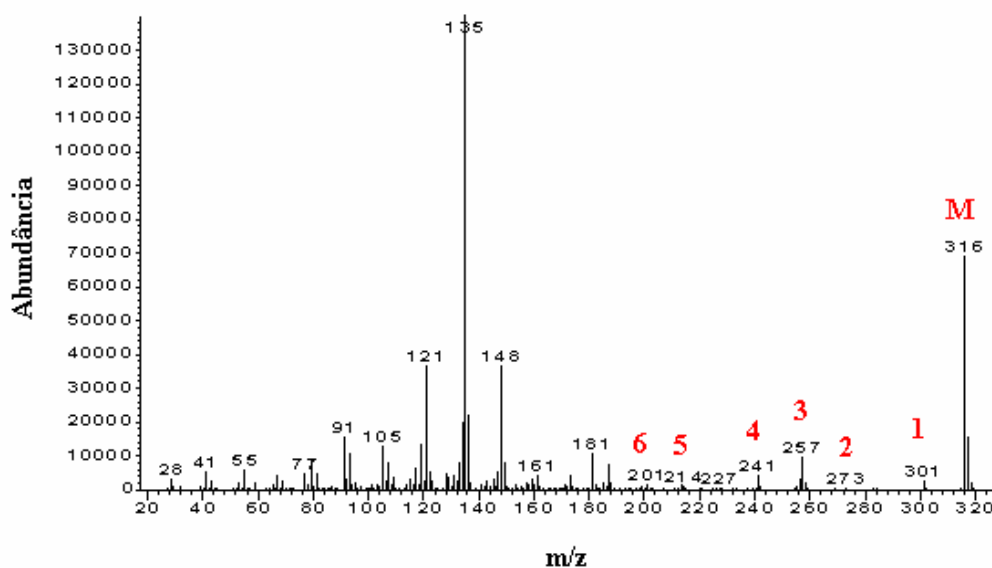
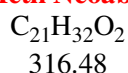
5 = fragmento $m/z = 213$, correspondente à fragmentação da molécula em **(b)** e **(c)**.

6 = fragmento $m/z = 199$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**, **(b)** e **(d)**.

Figura 59: Espectro de massa do metil abietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.



G - Metil Neoabietato



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 301$, resultado da fragmentação da molécula na posição (**a**) ocorrendo a perda de uma metila.

2 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula na posição (**b**).

3 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em (**c**).

4 = fragmento $m/z = 241$, correspondente à fragmentação da molécula em (**c**) e (**d**).

5 = fragmento $m/z = 213$, correspondente à fragmentação da molécula em (**b**) e (**c**).

6 = fragmento $m/z = 201$, correspondente à fragmentação da molécula em (**c**), (**b**) e (**d**).

Figura 60: Espectro de massa do metil neoabietato proveniente do fracionamento e posterior metilação dos ácidos resínicos presentes no CTO.

Anexo 3:

Caracterização por CG-EM dos Esteróis concentrados, obtidos do
processo de fracionamento do CTO

Na figura abaixo, o cromatograma apresentado na Figura 47, foi ampliado para facilitar a análise dos esteróis obtidos do processo de cristalização.

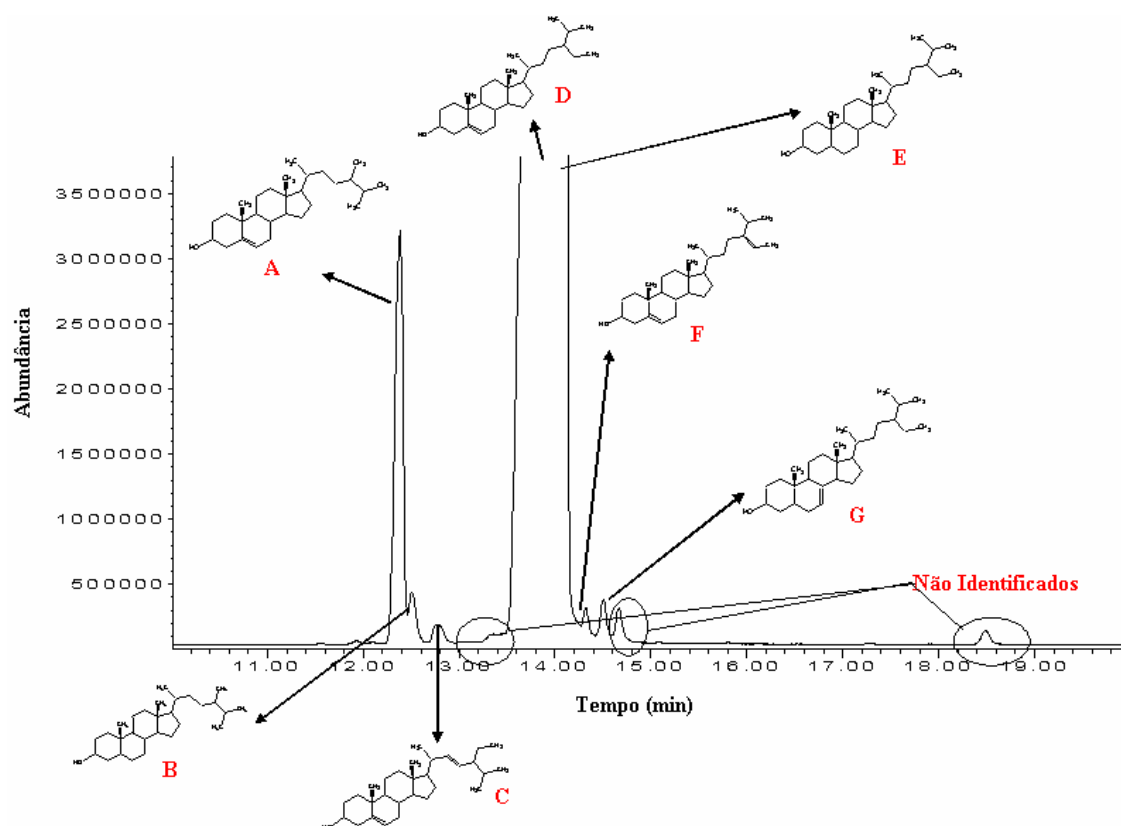
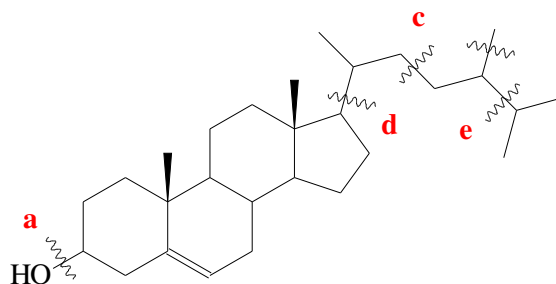


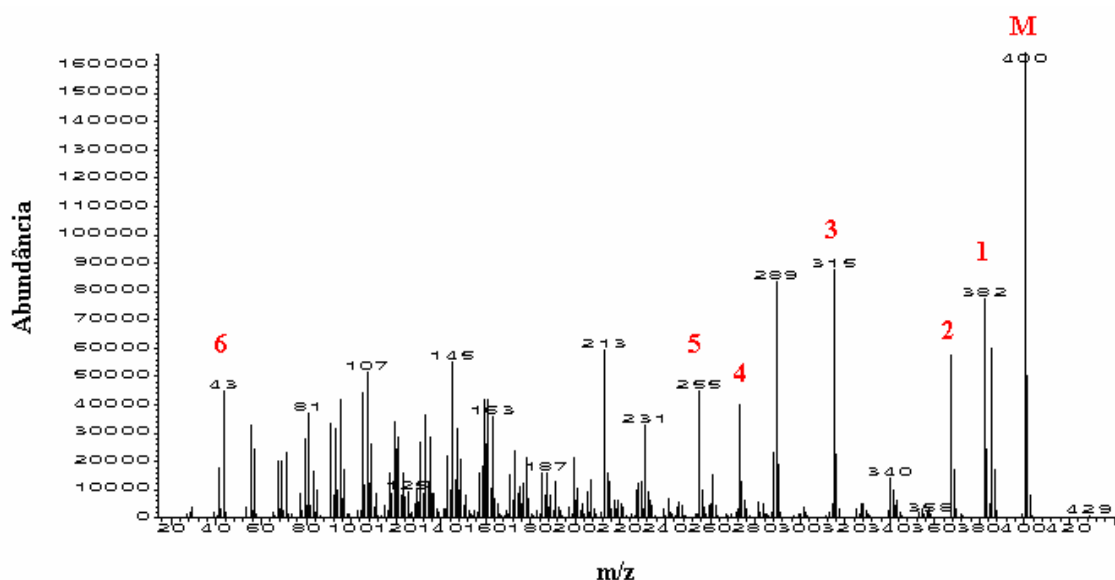
Figura 61: Cromatograma ampliado dos fitoesteróis obtidos por cristalização.



A - Campesterol



400.68



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 382$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 367$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(a)** perda de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

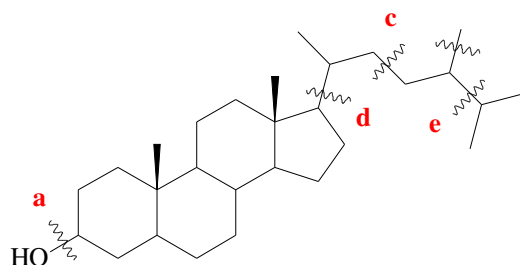
3 = fragmento $m/z = 315$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

4 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

5 = fragmento $m/z = 255$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)** e **(a)**.

6 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**.

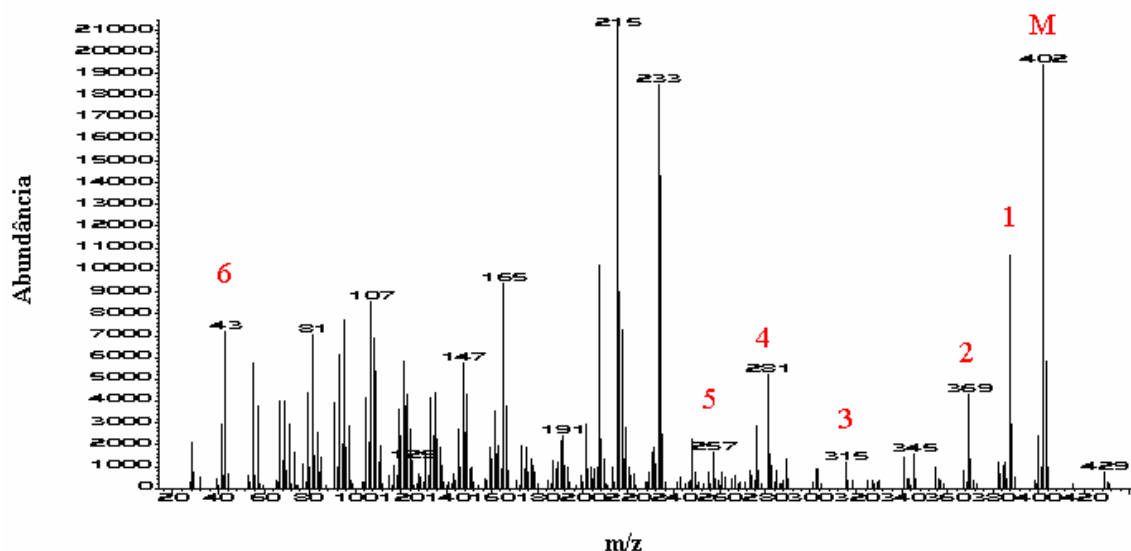
Figura 62: Espectro de massa do campesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.



B - Campestanol

$C_{28}H_{50}O$

402.70



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 384$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 369$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(a)** perda de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

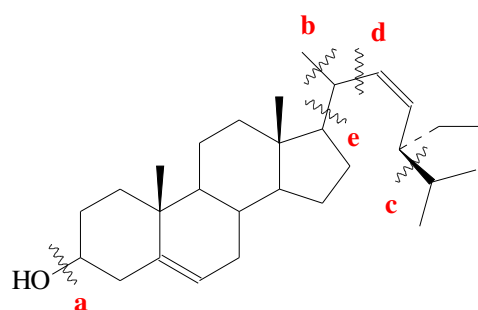
3 = fragmento $m/z = 315$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

4 = fragmento $m/z = 281$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

5 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)** e **(a)**.

6 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**.

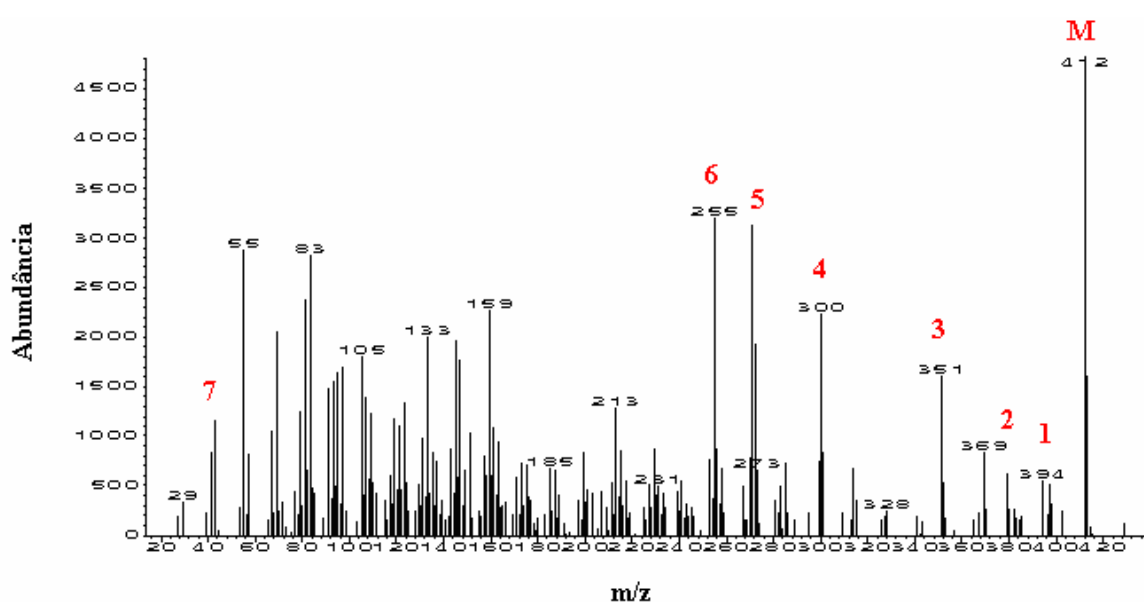
Figura 63: Espectro de massa do campestanol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.



C - Estigmaesterol

$C_{29}H_{48}O$

412.69



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 394$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 379$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** perde de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

3 = fragmento $m/z = 351$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(c)**.

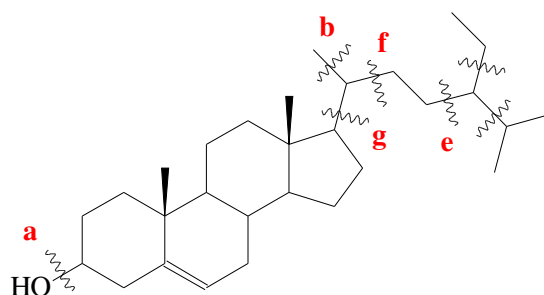
4 = fragmento $m/z = 301$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

5 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**.

6 = fragmento $m/z = 255$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)** e **(a)**.

7 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

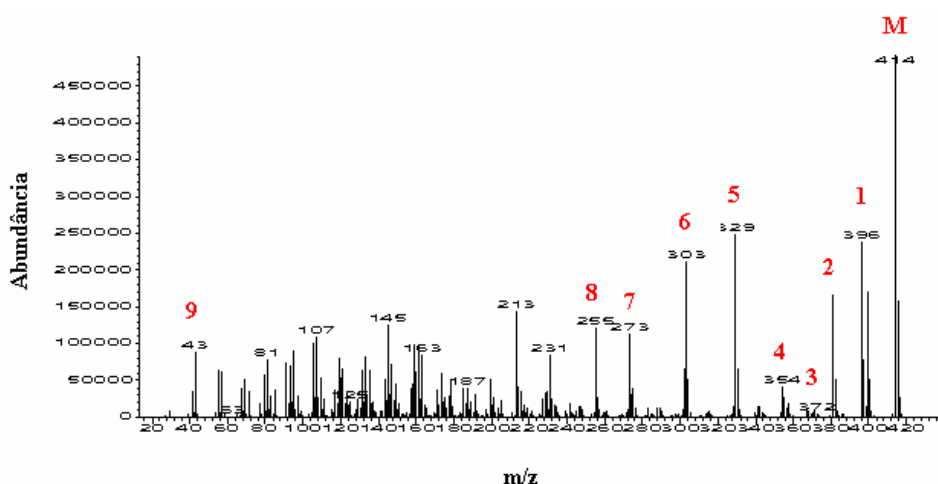
Figura 64: Espectro de massa do estigmaesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.



D - Beta Sitoesterol

$C_{29}H_{50}O$

414.71



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 396$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 381$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(a)** perda de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

3 = fragmento $m/z = 372$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(a)**.

4 = fragmento $m/z = 364$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)** e **(a)**.

5 = fragmento $m/z = 329$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**.

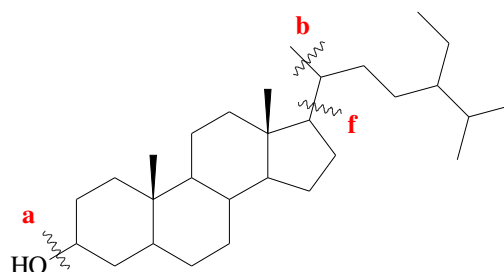
6 = fragmento $m/z = 303$, correspondente à fragmentação da molécula em **(f)**.

7 = fragmento $m/z = 273$, correspondente à fragmentação da molécula em **(g)**.

8 = fragmento $m/z = 255$, correspondente à fragmentação da molécula em **(g)** e **(a)**.

9 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

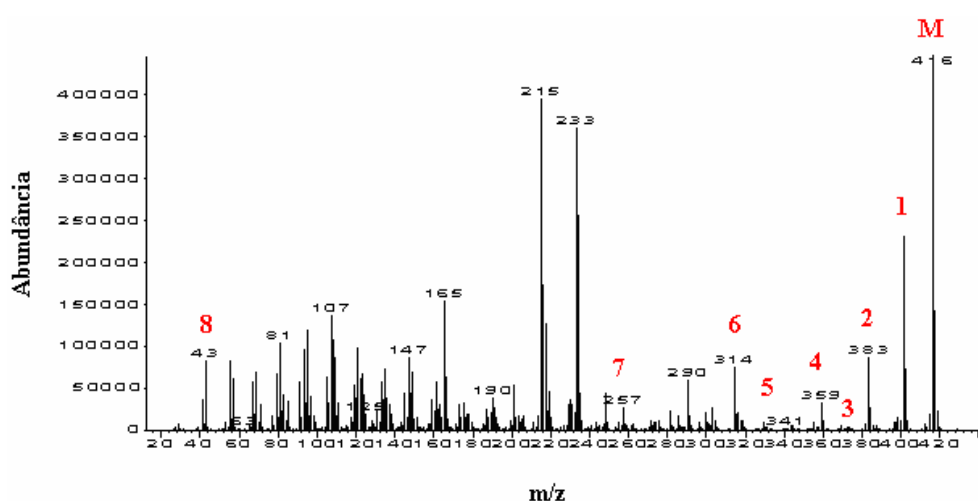
Figura 65: Espectro de massa do sitoesterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.



E - Beta Sitoestanol

$C_{29}H_{52}O$

416.73



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 398$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 383$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(a)** perda de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

3 = fragmento $m/z = 369$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(a)**.

4 = fragmento $m/z = 356$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)** e **(a)**.

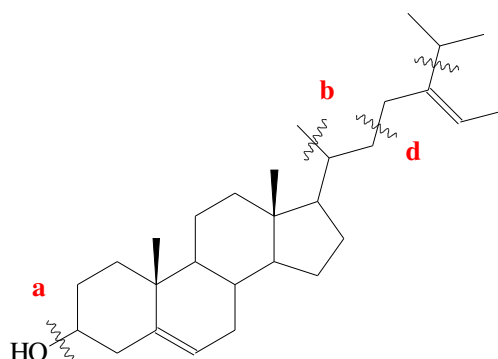
5 = fragmento $m/z = 331$, correspondente à fragmentação da molécula em **(e)**.

6 = fragmento $m/z = 314$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(e)**.

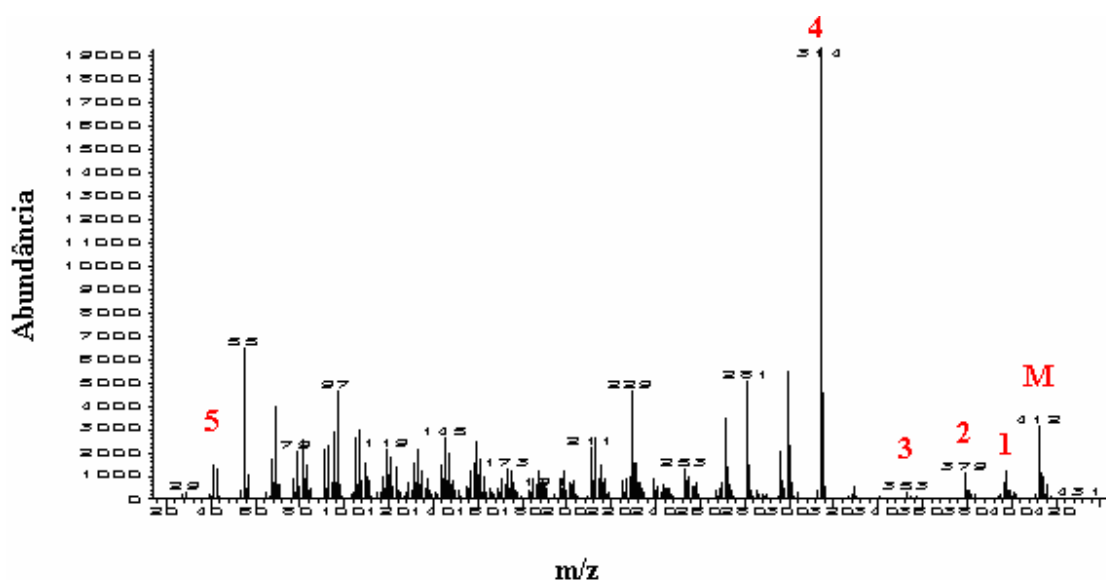
7 = fragmento $m/z = 257$, correspondente à fragmentação da molécula em **(a)** e **(f)**.

8 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

Figura 66: Espectro de massa do sitoestanol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.

**F - Fucosterol** $C_{29}H_{48}O$

412.69

**M** = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 394$, resultado da fragmentação da molécula na posição **(a)** gerando uma molécula de água.

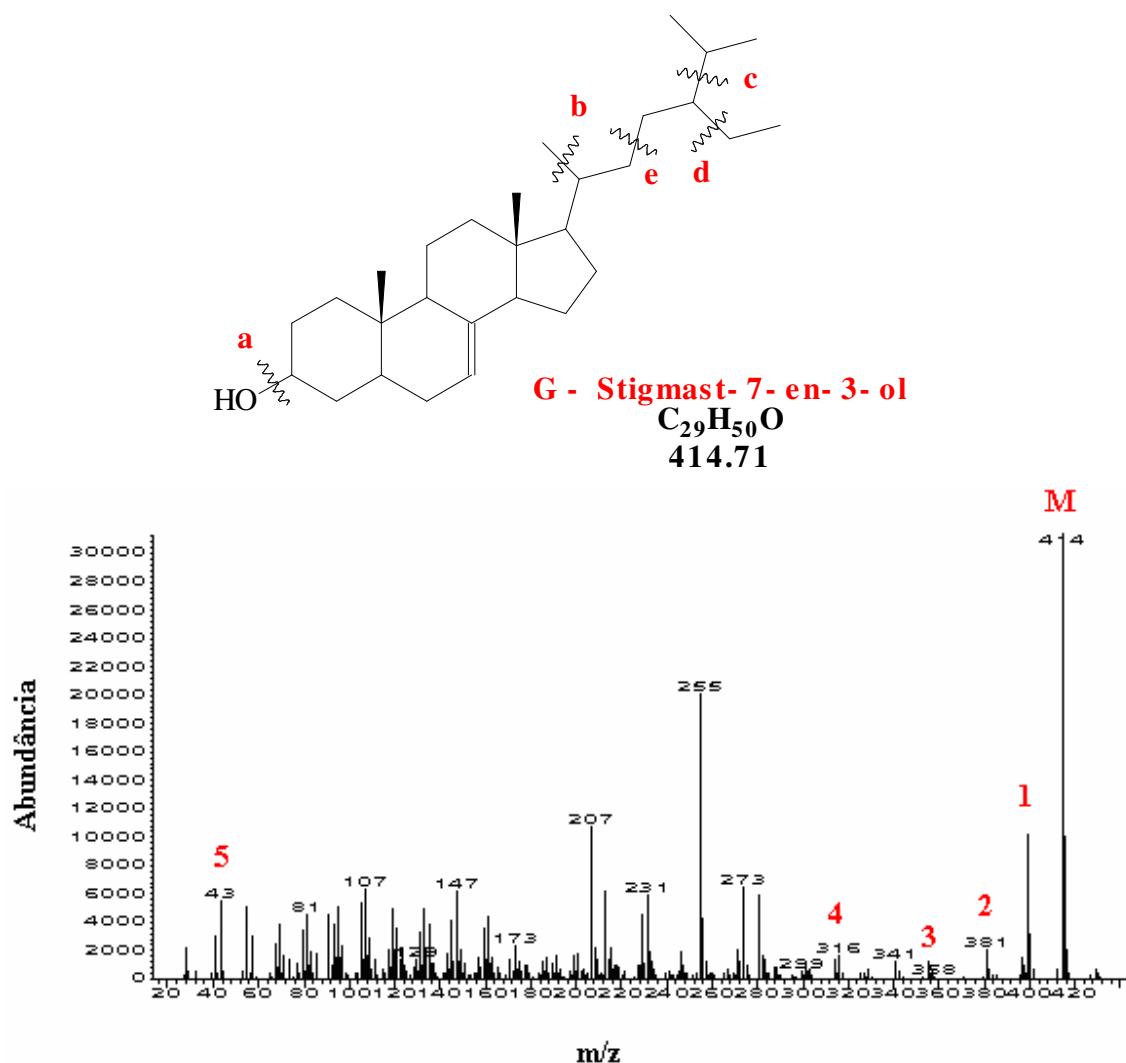
2 = fragmento $m/z = 379$, correspondente à fragmentação da molécula na posição **(a)** perda de uma molécula de água e **(b)** perda de uma metila.

3 = fragmento $m/z = 353$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)** e **(a)**.

4 = fragmento $m/z = 314$, correspondente à fragmentação da molécula em **(d)**.

5 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em **(c)**.

Figura 67: Espectro de massa do fucosterol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.



M = Íon Molecular

1 = fragmento $m/z = 397$, resultado da fragmentação da molécula na posição (**a**) gerando uma molécula de água.

2 = fragmento $m/z = 381$, correspondente à fragmentação da molécula na posição (**a**) perda de uma molécula de água e (**b**) perda de uma metila.

3 = fragmento $m/z = 368$, correspondente à fragmentação da molécula em (**c**) e (**a**).

4 = fragmento $m/z = 316$, correspondente à fragmentação da molécula em (**e**).

5 = fragmento $m/z = 43$, correspondente à fragmentação da molécula em (**d**).

Figura 68: Espectro de massa do stigmast-7-en-3-ol proveniente da cristalização dos esteróis presentes no CTO.

Anexo 4:

Patente

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
23 September 2004 (23.09.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/080942 A1

(51) International Patent Classification⁷: **C07C 67/02**,
C11B 13/00, C07J 75/00, 9/00

WOLF, Thomas [DE/DE]; Jägerstr. 22, 42781-Haan
(DE).

(21) International Application Number:
PCT/BR2004/000016

(74) Agent: **DANNEMANN, SIEMSEN, BIGLER &
IPANEMA MOREIRA**; Caixa Postal 2142, Rua Marquês
de Olinda, 70, 22251-040 Rio de Janeiro, RJ (BR).

(22) International Filing Date: 20 February 2004 (20.02.2004)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
PCT/BR03/00024
21 February 2003 (21.02.2003) BR

(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of national protection available): AE, AG, AL, AM,
AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN,
CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI,
GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MN, MW, MX, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM,
TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM,
ZW.

(71) Applicant (for all designated States except US): **COG-
NIS BRASIL LTD.** [BR/BR]; Avenida das Nações Unidas,
10.989, 4° andar, 04578-000-São Paulo-SP (BR).

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every
kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH,
GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), Euro-
pean (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR,
GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE, SI, SK,
TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW,
ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): **SATO, Setsuo**
[BR/BR]; Avenida Estevan Corbani, 449, casa 32, Jardim
Santa Maria, Jacareí, SP (BR). **SOUSA SALES, Hen-
rique Jorge** [BR/BR]; Avenida Dr. João Batista Soares
de Queiroz Jr., n° 2361, apto. 74, Jardim das Indústrias,
12240-000- São José dos Campos, SP- Brazil (BR).
PELOGGIA, Hercules [BR/BR]; Rua Maria José Pereira
Lencionne, n° 65, Cidade Jardim, 12320-520- Jacareí-SP
(BR). **KEMPERS, Peter** [DE/DE]; An den Pappeln, 22,
40516-Grevenbroich (DE). **BOTH, Sabine** [DE/DE];
Neustädterweg 23, 40229 Düsseldorf (DE). **SCHÖRKEN,
Ulrich** [DE/DE]; Pascalstr. 16, 40591 Düsseldorf (DE).

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PROCESS FOR OBTAINING FATTY ACID ALKYL ESTERS, ROSIN ACIDS AND STEROLS FROM CRUDE TALL OIL

(57) Abstract: The invention refers to a process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), which is characterised by the following steps: (a) reacting the free fatty acids present in the CTO with lower alcohols; (b) esterifying the sterols in the CTO with boric acid or transesterifying with catalyst; (c) separating the fatty acid lower alkyl esters and rosin acids from 10 the remaining sterol borate esters or sterol esters of fatty acids to produce a stream of sterol esters; (d) separating the fatty acid alkyl esters from the rosin acids to produce a first stream of fatty acid alky esters and a second stream of rosin acids; and (e) converting said sterol esters into the free sterols to produce a third stream of free sterols.

WO 2004/080942 A1

Title: **"PROCESS FOR OBTAINING FATTY ACID ALKYL ESTERS, ROSIN ACIDS AND STEROLS FROM CRUDE TALL OIL"**

Brief description of the invention

The invention refers to a process for obtaining fatty acid alkyl
5 esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO) which involves several esterification and distillation steps.

State of the art

The use of sterols to take control of cholesterol level in human
nutrition body industry might increase a lot the demand of non-GMO sterols,
10 consequently a commercial separation process of sterols from Crude Tall Oil is highly interesting from the economical viewpoint, since this is one of the main source of sterols. Crude tall oil typically comes from the sulphate process employed in the manufacture of cellulose from wood. More particularly, the spent black liquor from the pulping process is concentrated until sodium
15 salts (soaps) of various acids separate out and are skimmed off. The salts are acidified or decomposed with sulphuric acid so as to provide the crude tall oil.

Crude tall oil is refined mainly by vacuum distillation processes to
separate the various compounds almost completely into rosin and fatty acid
20 fractions. The current technology is based in distillation where the acids are fractionated in several columns. Using a first column to separate the more volatile fatty acids and rosin acids, from the less volatile materials, which include many of the unsaponifiable and neutral materials such as sterols and their esters. A second column is commonly designed to separate the more
25 volatile fatty acids from the less volatile rosin acids. The tall oil fatty acids usually contain 1-5 % rosin acids as by-products. This process usually ends up with a bottom that is currently called, as "pitch" where sterols, heavy hydrocarbons, wax alcohols are the main substances. Commercially only fatty and rosin acids are produced. Pitch usually is used as a fuel. Due to the high
30 distillation temperature there is significant sterols degradation. Also the most part of the free sterols are converted into esters. Tall oil pitch is a very viscous, dark product, which is rather difficult to handle. So far, there is no eco-

conomic commercial process running to extract sterols from the pitch. From the state of the art a number of processes are known describing ways to extract sterols from CTO soaps using solvents and distillation processes prior to any acid splitting process, which theoretically could avoid sterols losses [US 6,107,456; US 6,414,111; US 6,344,573], however, these processes are characterised by a high technical afford and were not reduced into practice for economical reasons.

A method of separating sterols from crude tall oil, wherein the sterols are not destroyed in the process, would be a useful invention in the chemical preparation industry. Therefore, the objective of this invention is to find out an economic process to separate the three main crude tall oil (CTO) components, fatty acids or their esters, rosin acids, and sterols, to get commercial valuable to these products.

Detailed description of the invention

What claimed is a process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), which is characterised by the following steps:

- (a) reacting the free fatty acids present in the CTO with lower alcohols;
- (b) esterifying the sterols in the CTO with boric acid or transesterifying with catalyst ;
- (c) separating the fatty acid lower alkyl esters and rosin acids from the remaining sterol borate esters or sterol esters of fatty acids to produce a stream of sterol esters.
- (d) separating the fatty acid alkyl esters from the rosin acids to produce a first stream of fatty acid lower alkyl esters and a second stream of rosin acids
- (e) converting said sterol esters into the free sterols to produce a third stream rich in free sterols.

In more detail, in step (a) of the process the fatty acids are converted into their respective C₁-C₄ alkyl, preferably into their methyl esters. The major advantage of this step lies in the low boiling point of the esters

thus obtained, what makes it easy to separate them from the other fractions. This is preferably done in a single esterification step due to the selective enzymatic or chemical reaction between fatty and rosin acids, with means that usually only the fatty acids are converted into their respective esters. The esterification can be conducted by means of acidic catalysts, like for example methane sulfonic acid or Fascat at temperatures of 120 to 150 °C, or enzymes, like for example the lipase Novozym CaLB (Novozymes A/S, Denmark) at temperatures of 20 to 60 °C, depending on the activity optimum of the micro-organisms. Usually, the enzymatical reaction takes a significant longer time. The esterification can be carried out under pressure.

In step (b), boric acid (H_3BO_3) is added to the CTO which contains fatty acid alkyl esters, sterols and rosin acids to transform all the free sterols into sterols triesters. Sterol esters are much more stable than free sterols itself which leads to less degradation products, specially the dehydration reaction. By this step it is possible to achieve a better separation between rosins and neutrals and to avoid the unwanted degradation of the sterols. Usually, the esterification is conducted a temperature of 200 to 230 °C.

Or ,Fascat 4350 (Tin based catalyst) is added to the CTO which contains fatty acid alkyl esters, sterols and rosin acids to transform all the free sterols into sterols fatty esters. Usually, the transesterification is conducted at a temperature of 230 °C for 3-4 hours.

In step (c) the fatty acid alky ester and rosin acids are separated from the sterol borate esters and other high molecular weight hydrocarbons preferably by means of a short pass distillation, preferably by means of a wiped film evaporator, which is again operated preferably at a reduced pressure of from 0.01 to 10 mmHg and a temperature of 160 to 240 °C.

In step (d) the fatty acid esters are separated from the remaining rosin acids by means of distillation, short path distillation or fractionation, employing milder conditions compared to the acid distillation with the advantage of getting fatty acid alkyl, preferably fatty acid methyl esters without rosin acids contamination and leaving less fatty acids in the bottom stream. The distillation is preferably carried out by means of a wiped film evaporator

which is usually conducted at a reduced pressure of 0.01 to 10 mmHg and a temperature of 190 to 240 °C and/or a subsequent column consisting of e.g. 15 steps with reflux, condensate, reboiler, known from the state of the art.

In step (e), the borate sterol esters are easily converted to the free sterols through hydrolysis or solvolysis. The preferred solvent, however, is water.

This process can also be applied to the tall oil pitch to enrich the sterols content. The borate esters step can be applied to separate tocopherols and sterols from the fatty acids portion in the soy bean vegetable oil distillate (VOD), and also to separate sterols and high molecular alcohols in the sugar cane waxes. The first stream, fatty acid methyl esters, is used to produce methyl dimerate, a raw material used to make polyamides as described in the US 6,281,373. The second stream, the rosin acids, is used to produce adhesives and other conventional products. The sterols can be used as feed in the existent purification sterols processes. The viscosity of this stream can be decreased by adding soy bean oil during the last distillation or by reacting alcohols, C₁₂-C₁₈-saturated or unsaturated during the boric acid esterification step. The alcohols can be recovered after the hydrolysis step.

Examples

1. Comparative example: wiped film evaporator distillation of crude tall oil.

This example illustrates for comparison purpose a wiped film evaporator (WFE) distillation of crude tall oil (CTO) in the same wiped film evaporator equipment used to develop the entire process, without selective enzymatic or chemical esterification of fatty acid and without transforms all free sterols into sterols borate triesters.

600,0 ml/h of CTO were passed through a WFE. The CTO contained 4,7 % b.w. sterol, of which only 9,0 % b.w. was already present as sterol esters. The WFE was operated at 1 mm Hg, with a initial residue temperature of 190 °C. The residue fraction (residue 1) leaving the bottom of the WFE represented 64,0 % b.w. of the CTO feed. The residue 1 contained 38,0 % b.w. rosin acids, 40,0 b.w. % of TOFA. In the second distillation, the WFE was operated at 1 mm Hg, with a initial residue 1 temperature of 240

°C. The residue fraction (residue 2) leaving the bottom of the WFE represented 15,0 % b.w. of the residue 1 feed. The residue 2 contained 40 % b.w. rosin acids, and 6 % b.w. total sterol. The sterol yield in this process was 25 % b.w., which means that 75 % b.w. of the sterols undergo thermal degradation or distilled off together the rosins and fatty acids.

From this example one can see that is not possible to separate the fatty acids from the rosin acids using short path distillation and also the sterols recovery is too low.

Inventive examples 2-7

These inventive examples describe the use of an selective chemical and enzymatic esterification of fatty acid from crude tall oil followed by the esterification of sterols by boric acid. The fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterol borates are separated in accordance with the present invention, to avoid the sterol degradation in the residue fraction, and producing a high quality fatty acid ester (TOFA-Me) and rosin acids from crude tall oil.

2. Esterification step

a) Chemical esterification: 1 kg of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA, were placed together with 750 g (23.43 moles) of methanol from Aldrich Chemical Co. and 12 g of methanesulfonic acid (0.12 moles) from Merck KGaA, into a 2-l-Büchi laboratory autoclave BEP 280 equipped with a thermometer, and mechanical agitator. Over a two-hour period, the temperature was maintained at 140°C, than the temperature was reduced from 140°C to 70°C and the unreacted methanol distilled off. The maximum reaction pressure in the reaction was 7 bar. The acid value of the CTO was reduced from initially 154 mgKOH/g to 65 mgKOH/g.

b) Enzymatic esterification: 3 kg of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA were placed together with 750 g (23.43 moles) of methanol from Aldrich Chemical Co., 120 g of water, and 1,5 g of Novozym CalB L from NOVOZYMES Latin America Ltda, in a 4-l-3-necked round bottom flask equipped with a thermometer, a mechanical agitator, and a condenser. The samples were shaken for 180 hrs at 30°C. The initial acid value of 154.0 mgKOH/g was reduced to 64.0 mgKOH/g.

c) Enzymatic esterification with immobilised enzyme: 50 g of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA were placed together with 5.0 g (0.16 moles) of methanol from Aldrich Chemical Co. and 2.5 g polypropylene carrier MP 100 (Membrana, Germany) previously loaded with 1.25 g Novozym CaLB L (Novozymes A/S, Denmark), in a flask. The samples were shaken for 22 hrs at 45°C. The initial acid value of 147.0 mgKOH/g was reduced to 69.2 mgKOH/g.

d) Enzymatic esterification with ethanol and immobilised enzyme: 50 g of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA were placed together with 5.0 g (0.11 moles) of ethanol from Aldrich Chemical Co., 5.0 g of water and 2.5 g polypropylene carrier MP 100 (Membrana, Germany) previously loaded with 1.25 g Novozym CaLB L (Novozymes A/S, Denmark), in a flask. The samples were shaken for 22 hrs at 45°C. The initial acid value of 147.0 mgKOH/g was reduced to 80.2 mgKOH/g.

The following experiments were carried out with chemical or enzymatic esterified crude tall oil, after removal of methanol and water by evaporation, according to example 2a-2d.

3. Esterification with boric acid/Transesterification with tin catalyst

a) 1 kg of CTO esterified (by step 2) dried at 110°C and 40mmHg and 5,0 g of boric acid (0,03 moles) obtained from Aldrich Chemical Co., were placed into a 2-liter, 3-necked round bottom flask and reacted for 4 h at 220 °C to bond all the free sterols into esters.

b) 1 kg of CTO esterified (by step 2) dried at 110°C and 40mmHg and 0,4 g of Fascat 4350 obtained from Atofina , were placed into a 2-liter, 3-necked round bottom flask and reacted for 4 h at 230 °C to bond all the free sterols into esters.

4. Separation of fatty acid alkyl esters and rosin acids from sterol borates/sterol fatty ester

1 kg of the product produced by step 3 was distilled in the WFE which was operated at 2 mm Hg , 210 °C and feed flow 550ml/hour. The residue 1 leaving the bottom of the WFE represented 20,0 % w/w of the CTO feed. The residue 1 contained 21 % w/w of sterols as esters and the

top fraction 2 representing 80% w/w with no sterols having 62% of fatty acid methyl ester, 33 % of rosin acids and 5 % of unsap's material . Thermal degradation reactions were minimal.

5. Separation of fatty acid alkyl esters from rosin acids

5 1600 g of the top fraction 2 obtained in the in the step 4 was distilled in a laboratory column distillation at 250 °C(bottom) /210 °C(top) and 2 mmHg . The top fraction 1 represented 65% w/w contained 90% of fatty acid methyl ester , 0.3 % of rosin acid and 9.7% of unsaponifiable material. The bottom fraction 2 represented 35% having 90% of rosin acid and 10% of
10 heavy components.

6. Hydrolysis of sterol borate esters

To 500 g of the residue 1, obtained in the step 4, was added 200 g of purified water, heated up to 90 °C stirred for 1 hour. After phase separation the residue was washed two times with 50 g purified water and
15 dried.

7. Solvolysis of sterol fatty acid esters

To 500 g of the residue 1, obtained in the step 4, was added 100 g of glycerin, heated up to 220 °C stirred for 3 hour. After this step 85% of free sterols are obtained and separated by appropriated methods.

CLAIMS

1. A process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), characterised in that said CTO is subjected to the following steps:

- 5 (a) reacting the free fatty acids present in the CTO with lower alcohols;
- (b) esterifying the sterols in the CTO with boric acid or transesterifying with catalyst;
- (c) separating the fatty acid lower alkyl esters and rosin acids from
10 the remaining sterol borate esters or sterol esters of fatty acids to produce a stream of sterol esters;
- (d) separating the fatty acid alkyl esters from the rosin acids to produce a first stream of fatty acid alkyl esters and a second stream of rosin acids; and
- 15 (e) converting said sterol esters into the free sterols to produce a third stream of free sterols.

2. Process according to claim 1, characterised in that with respect to step (a) the esterification is carried out in the presence of acidic catalysts.

20 3. Process according to claim 2, characterised in that methane sulfonic acid is used as the catalyst.

4. Process according to claim 2 and/or 3, characterised in that the esterification is conducted at a temperature of 120 to 150 °C.

25 5. Process according to claim 1, characterised in that with respect to step (a) the esterification is carried out in the presence of enzymes.

6. Process according to claim 5, characterised in that the esterification is conducted with enzymes attached to a solid support.

7. Process according to claim 5 to 6, characterised in that the esterification is conducted at a temperature of 20 to 60 °C.

30 8. Process according to any of claims 1 to 7, characterised in that with respect to step (b) the esterification is conducted at a temperature of 200 to 230 °C.

9. Process according to any of claims 1 to 8, characterised in that with respect to steps (c) and (d) the distillation is carried out by means of a wiped film evaporator and/or fractionation column.

5 10. Process according to claim 9, characterised in that said wiped film evaporator is operated at a reduced pressure of 0.01 to 10 mm/Hg and a temperature of 190 to 240 °C and/or the fractionation column is operated at 0.1 to 5 mmHg and temperature of 170 to 230°C at the top and 240 to 280°C at the bottom.

10 11. Process according to any of claims 1 to 10, characterised in that with respect to step (d) the fatty acid alkyl ester is free of rosin acids.

12. Process according to any of claims 1 to 11, characterised in that with respect to step (e) the hydrolysis of the sterol borates is affected by means of water.

15 13. Process according to any of claims 1 to 11, characterised in that with respect to step (e) the solvolysis of the sterol esters is done using polyols such as glycerol.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/BR2004/000016

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER		
IPC 7 C07C67/02 C11B13/00 C07J75/00 C07J9/00		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 7 C07C C11B C07J		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, PAJ, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 94/05650 A (HENKEL KGAA) 17 March 1994 (1994-03-17) page 6, paragraph 2 page 7, paragraph 3 examples	1-13
A	DE 101 19 972 A (KUMAR D ; WEBER NIKOLAUS (DE)) 23 May 2002 (2002-05-23) page 3, line 22 - page 4, line 35 example 7; table 4	1-13
A	US 6 107 456 A (HUIBERS DERK T A ET AL) 22 August 2000 (2000-08-22) cited in the application the whole document	1-13
-/--		
☒ Further documents are listed in the continuation of box C. ☒ Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents : *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance *E* earlier document but published on or after the international filing date *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. *&* document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 14 May 2004		Date of mailing of the international search report 26/05/2004
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Authorized officer Österle, C

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/BR2004/000016

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 344 573 B1 (ROHR RODOLFO ET AL) 5 February 2002 (2002-02-05) cited in the application example 3	1-13
A	US 6 414 111 B2 (HUIBERS DERK T A ET AL) 2 July 2002 (2002-07-02) cited in the application the whole document	1-13
A	US 3 804 819 A (LEAVENS D ET AL) 16 April 1974 (1974-04-16) figure 1; examples 4,5	1-13

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/BR2004/000016

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9405650	A	17-03-1994	DE 4228476 A1 AT 163416 T BR 9306967 A CA 2143441 A1 DE 59308185 D1 DK 656894 T3 WO 9405650 A1 EP 0656894 A1 ES 2112427 T3 JP 8500598 T US 5627289 A	03-03-1994 15-03-1998 12-01-1999 17-03-1994 02-04-1998 23-09-1998 17-03-1994 14-06-1995 01-04-1998 23-01-1996 06-05-1997
DE 10119972	A	23-05-2002	DE 10018787 A1 DE 10119972 A1	03-05-2001 23-05-2002
US 6107456	A	22-08-2000	US 2001007906 A1	12-07-2001
US 6344573	B1	05-02-2002	NONE	
US 6414111	B2	12-07-2001	US 6107456 A US 2001007906 A1	22-08-2000 12-07-2001
US 3804819	A	16-04-1974	NONE	

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
2 September 2004 (02.09.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/074233 A1

(51) International Patent Classification⁷: **C07C 67/02**,
C11B 13/00, C07J 75/00

Pascalstr. 16, 40591-Düsseldorf (DE). **WOLF, Thomas**
[DE/DE]; Jägerstr. 22, 42781-Haan (DE).

(21) International Application Number:
PCT/BR2003/000024

(74) Agent: **DANNEMANN, SIEMSEM, BIGLER &
IPANEMA MOREIRA**; Caixa Postal 2142, Rua Marquês
de Olinda, 70, 22251-040 - Rio de Janeiro - RJ (BR).

(22) International Filing Date: 21 February 2003 (21.02.2003)

(81) Designated States (*national*): AE, AG, AL, AM, AT, AU,
AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU,
CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH,
GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC,
LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW,
MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE,
SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ,
VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(71) Applicant (*for all designated States except US*): **COG-
NIS BRASIL LTD.** [BR/BR]; Avenida das Nações Unidas,
10.989, 4° andar, 04578-000-São Paulo-SP (BR).

(84) Designated States (*regional*): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI,
SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN,
GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (*for US only*): **SATO, Setsuo**
[BR/BR]; Avenida Estevan Corbani, 449, casa 32, Jardim
Santa Maria, Jacareí, SP (BR). **SOUSA SALES, Hen-
rique, Jorge** [BR/BR]; Avenida Dr. João Batista de
Queiroz Jr., 2361, Apto. 74, Jardim das Indústrias,
12240-000 São José dos Campos, SP (BR). **PELOGGIA,
Hercules** [BR/BR]; Rua Maria José Pereira Lencionne, 65,
Cidade Jardim, 12320-520-Jacareí-SP (BR). **KEMPERS,
Peter** [DE/DE]; An den Pappeln, 22, 40516-Greven-
broich (DE). **BOTH, Sabine** [DE/DE]; Neustädterweg 23,
40229 Düsseldorf (DE). **SCHORKEN, Ulrich** [DE/DE];

Published:

— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: PROCESS FOR OBTAINING FATTY ACID ALKYL ESTERS, ROSIN ACIDS AND STEROLS FROM CRUDE TALL OIL

(57) Abstract: The invention refers to a process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), which is characterized by the following steps: (b) reacting the free fatty acid present in the CTO with lower alcohols; (c) separating the fatty acid lower alkyl esters thus obtained from the remaining CTO to produce a first stream of fatty acid esters; (d) esterifying the sterols in the remaining CTO with boric acid; (e) separating the remaining rosin acids from the sterol borates previously obtained to produce a second stream of rosin acids; and (f) converting said sterol borates into the free sterols to produce a third stream of free sterols.



WO 2004/074233 A1

Title: "PROCESS FOR OBTAINING FATTY ACID ALKYL ESTERS, ROSIN ACIDS AND STEROLS FROM CRUDE TALL OIL"

Brief description of the invention

The invention refers to a process for obtaining fatty acid alkyl
5 esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO) which involves several esterification and distillation steps.

State of the art

The use of sterols to take control of cholesterol level in human
nutrition body industry might increase a lot the demand of non-GMO sterols,
10 consequently a commercial separation process of sterols from Crude Tall Oil is highly interesting from the economical viewpoint, since this is one of the main source of sterols. Crude tall oil typically comes from the sulphate process employed in the manufacture of cellulose from wood. More particularly, the spent black liquor from the pulping process is concentrated until sodium
15 salts (soaps) of various acids separate out and are skimmed off. The salts are acidified or decomposed with sulphuric acid so as to provide the crude tall oil.

Crude tall oil is refined mainly by vacuum distillation processes to
separate the various compounds almost completely into rosin and fatty acid
20 fractions. The current technology is based in distillation where the acids are fractionated in several columns. Using a first column to separate the more volatile fatty acids and rosin acids, from the less volatile materials, which include many of the unsaponifiable and neutral materials such as sterols and their esters. A second column is commonly designed to separate the more
25 volatile fatty acids from the less volatile rosin acids. This process usually ends up with a bottom that is currently called, as "pitch" where sterols, heavy hydrocarbons, wax alcohols are the main substances. Commercially only fatty and rosin acids are produced. Pitch usually is used as a fuel. Due to the high distillation temperature there is significant sterols degradation. Also the
30 most part of the free sterols are converted into esters. Tall oil pitch is a very viscous, dark product, which is rather difficult to handle. So far, there is no economic commercial process running to extract sterols from the pitch. From

the state of the art a number of processes are known describing ways to extract sterols from CTO soaps using solvents and distillation processes prior to any acid splitting process, which theoretically could avoid sterols losses [US 6,107,456; US 6,414,111; US 6,344,573], however, these processes are
5 characterised by a high technical afford and were not reduced into practice for economical reasons.

A method of separating sterols from crude tall oil, wherein the sterols are not destroyed in the process, would be a useful invention in the chemical preparation industry. Therefore, the objective of this invention is to
10 find out an economic process to separate the three main crude tall oil (CTO) components, fatty acids or their esters, rosin acids, and sterols, to get commercial valuable to these products.

Detailed description of the invention

What claimed is a process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), which is characterised by
15 the following steps:

- (a) reacting the free fatty acids present in the CTO with lower alcohols;
- (b) separating the fatty acid lower alkyl esters thus obtained from the
20 remaining CTO to produce a first stream of fatty acid esters;
- (c) esterifying the sterols in the remaining CTO with boric acid;
- (d) separating the remaining rosin acids from the sterol borates previously obtained to produce a second stream of rosin acids; and
- (e) converting said sterol borates into the free sterols to produce a
25 third stream of free sterols.

In more detail, in step (a) of the process the fatty acids are converted into their respective C₁-C₄ alkyl, preferably into their methyl esters. The major advantage of this step lies in the low boiling point of the esters thus obtained, what makes it easy to separate them from the other
30 fractions. This is preferably done in a single esterification step due to the selective enzymatic or chemical reaction between fatty and rosin acids, with means that usually only the fatty acids are converted into their respective

esters. The esterification can be conducted by means of acidic catalysts, like for example methane sulfonic acid at temperatures of 120 to 150 °C, or enzymes, like for example Novozym CaLB (Novo) at temperatures of 20 to 50 °C, depending on the activity optimum of the micro-organisms. Usually, the enzymatical reaction takes a significant longer time. The esterification can be carried out under pressure.

In step (b) the fatty acid esters thus obtained are separated from the remaining CTO by means of distillation, short path distillation or fractionation, employing milder conditions compared to the acid distillation with the advantage of getting fatty acid alkyl, preferably fatty acid methyl esters without rosin acids contamination and leaving less fatty acids in the bottom stream. The distillation is preferably carried out by means of a wiped film evaporator which is usually conducted at a reduced pressure of 0.01 to 10 mmHg and a temperature of 190 to 240 °C.

After the fatty acid methyl esters distillation boric acid (H_3BO_3) is added to the bottom stream which contains sterols and rosin acids to transform all the free sterols into sterols triesters (step c). Sterol esters are much more stable than free sterols itself which leads to less degradation products, specially the dehydration reaction. By this step it is possible to achieve a better separation between rosins and neutrals and to avoid the unwanted degradation of the sterols. Usually, the esterification is conducted a temperature of 200 to 230 °C.

Finally, according to steps (d) and (e) the rosin acids also are separated from the sterols borate esters and other high molecular weight hydrocarbons preferably by means of a short pass distillation, preferably by means of a wiped film evaporator, which is again operated preferably at a reduced pressure of from 0.01 to 10 mmHg and a temperature of 190 to 240 °C. After the rosin acids distillation the borate sterol esters are easily converted to the free sterols through hydrolysis or solvolysis. The preferred solvent, however, is water.

This process can also be applied to the tall oil pitch to enrich the sterols content. The borate esters step can be applied to separate tocopherols.

rols and sterols from the fatty acids portion in the soy bean vegetable oil distillate (VOD), and also to separate sterols and high molecular alcohols in the sugar cane waxes. The first stream, fatty acid methyl esters, is used to produce methyl dimerate, a raw material used to make polyamides as described
5 in the US 6,281,373. The second stream, the rosin acids, is used to produce adhesives and other conventional products. The third stream, can be used as high sterols feed in the existent purification sterols processes. The viscosity of this stream can be decreased by adding soy bean oil during the last distillation or by reacting alcohols, C₁₂-C₁₈—saturated or unsaturated during
10 the boric acid esterification step. The alcohols can be recovered after the hydrolysis step.

Examples

Comparative example C1

Wiped film evaporator distillation of crude tall oil

15 This example illustrates for comparison purpose a wiped film evaporator (WFE) distillation of crude tall oil (CTO) in the same wiped film evaporator equipment used to develop the entire process, without selective enzymatic or chemical esterification of fatty acid and without transforms all free sterols into sterols borate triesters.

20 600,0 ml/h of CTO were passed through a WFE. The CTO contained 4,7 % b.w. sterol, of which only 9,0 % b.w. was already present as sterol esters. The WFE was operated at 1 mm Hg, with a initial residue temperature of 190 °C. The residue fraction (residue 1) leaving the bottom of the WFE represented 64,0 % b.w. of the CTO feed. The residue 1 contained
25 38,0 % b.w. rosin acids, 40,0 b.w. % of TOFA. In the second distillation, the WFE was operated at 1 mm Hg, with a initial residue 1 temperature of 240 °C. The residue fraction (residue 2) leaving the bottom of the WFE represented 15,0 % b.w. of the residue 1 feed. The residue 2 contained 40 % b.w. rosin acids, and 6 % b.w. total sterol. The sterol yield in this process
30 was 25 % b.w., which means that 75 % b.w. of the sterols were degraded or distilled off together the rosins and fatty acids.

From this example one can see that is not possible to separate

the fatty acids from the rosin acids using short path distillation and also the sterols recovery is too low.

Inventive example 1

Crude tall oil chemical esterification and distillation:

5 This inventive example describes the use of an selective chemical esterification of fatty acid from crude tall oil followed by the wiped film evaporator (WFE) to separate the fatty acids as methyl esters from the remaining heavy products, as used in accordance with the present invention, to avoid the sterols degradation in the residue fraction, and producing a high
10 quality fatty acid ester (TOFA-Me) and rosin acids from crude tall oil.

(a) Esterification step

1 kg of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA, were placed together with 750 g (23,43 moles) of methanol from Aldrich Chemical Co. and 12 g of methanesulfonic acid (0,12 moles) from Merck
15 KGaA, into a 2-l-Büchi laboratory autoclave BEP 280 equipped with a thermometer, and mechanical agitator. Over a two-hour period, the temperature was maintained at 140°C, than the temperature was reduced from 140°C to 70°C and the unreacted methanol distilled off. The maximum reaction pressure in the reaction was 7 bar. The acid value of the CTO was reduced from
20 initially 154 mgKOH/g to 65 mgKOH/g.

(b) Distillation step

1,0 kg/h of CTO were passed through a WFE. The initial CTO contained 4,7 % b.w. sterol, of which only 9,0 % b.w. were already present as sterol esters, 40.2 % b.w. of rosin acids and 45 % b.w. of fatty acids. The
25 WFE were operated at 1 mm Hg, with a initial residue temperature of 190 °C. The residue fraction (residue 1) leaving the bottom of the WFE represented 55 % b.w. of the CTO feed having 8.6 % b.w. total sterols. The sterol yield in this first distillation has been 99.4 % b.w.. The remaining 0.6 % b.w. of the sterols was evaporated along the distillate 1 which had 93 % b.w. of TOFA-
30 Me and 7 % b.w. of light boilers. Thermal degradation reactions are minimal. Subsequently, to 1 kg of residue 1 5,0 g of boric acid (0,08 moles) obtained from Aldrich Chemical Co., were added. The sample was transferred into a

2-liter, 3-necked round bottom flask for 4 h at 220°C to bond all the free sterols into esters. After this step the product was distilled through the WFE which was operated at 1 mm Hg, with a residue temperature of 240 °C. The residue 2 fraction leaving the bottom of the WFE represented 35% of the CTO feed. The residue 2 had 21 % b.w. total sterols. The total sterols yield in the entire process (distillation 1 and 2) was 88 % of the theory.

Inventive example 2

Crude Tall Oil enzymatic esterification and distillation:

This example describes the use of an selective enzymatic esterification of fatty acid from crude tall oil and a wiped film evaporator (WFE), as used in accordance with the present invention, to increase the yield of sterols in the residue fraction, and to produce a high quality fatty acid ester (TOFA-Me = tall oil fatty acid methyl esters) and rosinic acid from crude tall oil.

(a) Esterification step

3 kg of CTO obtained from RESITEC Indústrias Químicas LTDA were placed together with 750 g (23,43 moles) of methanol from Aldrich Chemical Co., 120 g of water, and 1,5 g of Novozym CalB L from NOVO-ZYMES Latin America Ltda, in a 4-l-3-necked round bottom flask equipped with a thermometer, a mechanical agitator , and a condenser. The samples were shaken for 180 hrs at 30°C. The initial acid value of 154,0 mgKOH/g was reduced to 64,0 mgKOH/g.

(b) Distillation step

After enzymatic esterification the product was distilled in the WFE which was operated at 1 mm Hg, with a initial residue temperature of 190°C. The residue 1 leaving the bottom of the WFE represented 54,0 % b.w. of the CTO feed. The residue 1 contained 8,8 % b.w. total sterols. The sterols yield in this first fractionation represented 99,4 % b.w. The remaining 0,6 % b.w. of the sterol were evaporated along with the volatile portion of the CTO. Thermal degradation reactions were minimal. Subsequently, to 1 kg of residue 1 5,0 g of boric acid (0,08 moles) obtained from Aldrich Chemical Co., the sample were added. The sample was transferred into a 2-liter, 3-necked round bottom flask for 4 h at 220 °C to bond all the free sterols into

esters. After the reaction the product was distilled through a WFE operating at 1 mm Hg, with a residue temperature of 240 °C. The residue 2 fraction leaving the bottom of the WFE represented 35,0 % b.w. of the residue 1 feed having 21 % b.w. of sterols. Thermal degradation products were 6,0 % b.w. in the total.

CLAIMS

1. A process for obtaining fatty acid alkyl esters, rosin acids and sterols from crude tall oil (CTO), **characterised in** that said CTO is subjected to the following steps:

- 5 (a) reacting the free fatty acids present in the CTO with lower alcohols;
- (b) separating the fatty acid lower alkyl esters thus obtained from the remaining CTO to produce a first stream of fatty acid esters;
- (c) esterifying the sterols in the remaining CTO with boric acid;
- 10 (d) separating the remaining rosin acids from the sterol borates previously obtained to produce a second stream of rosin acids; and
- (e) converting said sterol borates into the free sterols to produce a third stream of free sterols.

2. Process according to claim 1, **characterised in** that with respect to step (a) the esterification is carried out in the presence of acidic catalysts .

15

3. Process according to claim 2, **characterised in** that methane sulfonic acid is used as the catalyst.

4. Process according to claim 2 and/or 3, **characterised in** that the esterification is conducted at a temperature of 120 to 150 °C.

20

5. Process according to claim 1, **characterised in** that with respect to step (a) the esterification is carried out in the presence of enzymes.

6. Process according to claim 5, **characterised in** that the esterification is conducted at a temperature of 20 to 50 °C.

25 7. Process according to any of claims 1 to 6, **characterised in** that with respect to steps (b) and (d) the distillation is carried out by means of a wiped film evaporator.

8. Process according to claim 7, **characterised in** that said wiped film evaporator is operated at a reduced pressure of 0.01 to 10 mm/Hg and a temperature of 190 to 240 °C.

30

9. Process according to any of claims 1 to 8, **characterised in** that with respect to step (c) the esterification is conducted at a temperature

of 200 to 230 °C.

10. Process according to any of claims 1 to 9, **characterised in** that with respect to step (e) the solvolysis of the sterol borates is affected by means of water.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Internat Application No
PCT/BR 03/00024

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07C67/02 C11B13/00 C07J75/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07C C11B C07J

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 107 456 A (HUIBERS DERK T A ET AL) 22 August 2000 (2000-08-22) cited in the application the whole document	1-10
A	US 6 344 573 B1 (ROHR RODOLFO ET AL) 5 February 2002 (2002-02-05) cited in the application example 3	1-10
A	US 6 414 111 B2 (HUIBERS DERK T A ET AL) 2 July 2002 (2002-07-02) cited in the application the whole document	1-10
A	US 3 804 819 A (LEAVENS D ET AL) 16 April 1974 (1974-04-16) figure 1; examples 4,5	1-10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the international filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- * & * document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

3 November 2003

Date of mailing of the international search report

07/11/2003

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Janus, S

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

Internat

Application No

PCT/BR 03/00024

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6107456	A	22-08-2000	US 2001007906 A1	12-07-2001
US 6344573	B1	05-02-2002	NONE	
US 6414111	B2	12-07-2001	US 6107456 A	22-08-2000
			US 2001007906 A1	12-07-2001
US 3804819	A	16-04-1974	NONE	