



UNILAB

**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO (PROPPG)
INSTITUTO DE ENGENHARIAS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
(IEDS)
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA E AMBIENTE (PGEA)**

JEAN GLEISON ANDRADE DO NASCIMENTO

**VALORIZAÇÃO DE ÓLEO RESIDUAL POR CATÁLISE ENZIMÁTICA
SUPPORTADA EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA PRODUÇÃO DE
BIODIESEL**

REDENÇÃO – CEARÁ

2022

JEAN GLEISON ANDRADE DO NASCIMENTO

VALORIZAÇÃO DE ÓLEO RESIDUAL POR CATÁLISE ENZIMÁTICA SUPOSTADA
EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia e Ambiente (PPGEA), da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre em Energia e Ambiente.

Linha de Pesquisa 1: Processos Sustentáveis, Inovação e Difusão Tecnológica. **Subárea:** Processos Químicos.

Orientadora: Profa. Dr^a. Maria Cristiane Martins de Souza.

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Sistema de Bibliotecas da UNILAB
Catalogação de Publicação na Fonte.

Nascimento, Jean Gleison Andrade do.

N193v

Valorização de óleo residual por catálise enzimática suportada em nanopartículas magnéticas para produção de biodiesel / Jean Gleison Andrade do Nascimento. - Redenção, 2022.
73f: il.

Dissertação - Curso de Mestrado Acadêmico em Energia e Ambiente, Programa de Pós-graduação em Energia e Ambiente, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2022.

Orientador: Profa. Dra. Maria Cristiane Martins de Souza.

1. Biodiesel. 2. Óleos vegetais. 3. Biomassa. I. Título

CE/UF/BSP

CDD 665.5384

JEAN GLEISON ANDRADE DO NASCIMENTO

**VALORIZAÇÃO DE ÓLEO DE FRITURA POR CATÁLISE ENZIMÁTICA
SUPPORTADA EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS PARA PRODUÇÃO DE
BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado Acadêmico em Energia e Ambiente, da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, como requisito parcial para a obtenção de título de Mestre. **Linha de Pesquisa 1:** Processos Sustentáveis, Inovação e Difusão Tecnológica. **Subárea:** Processos Químicos.

Aprovado em: 17/08 /2022.

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a. Dr.^a. Maria Cristiane Martins de Souza (Orientadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB

Prof. Dr. Tiago Lima de Albuquerque

Universidade Federal do Ceará – UFC

AGRADECIMENTOS

A Deus, que sempre esteve a minha frente, me orientando, iluminando e abençoando o meu caminho, permitindo momentos felizes, como a realização desse grande sonho. Todas as conquistas da minha vida só foram possíveis graças a Ele.

À minha família, minha mãe, pai, irmãos, esposa, amigos e colegas de trabalho, aos meus professores e profissionais da UNILAB, aos meus estudantes e aos meus colegas, que tiveram um papel fundamental na minha formação pessoal e acadêmica e que compartilharam momentos importantes e significativos, sempre estando ao meu lado e almejando o sucesso deste momento.

Aos meus amigos da turma 2019.2, que estiveram comigo em muitos momentos importantes e que torceram e apoiaram o meu crescimento.

Aos examinadores da banca, que aceitaram o convite para contribuir com minha formação.

À minha Orientadora, Maria Cristiane Martins de Souza, por tudo que fez por mim e por minha formação contribuindo significativamente para o meu desenvolvimento intelectual e pessoal. Seu profissionalismo, competência e orientação foram indispensáveis para a construção desse trabalho.

A FUNCAP e CAPES por todo incentivo e financiamento ao desenvolvimento das pesquisas.

RESUMO

A diversificação e a busca por energias fizeram com que os diversos países investissem em tecnologias e processos que propiciassem o surgimento de novas fontes energéticas e economicamente viáveis. Desta forma para um país ser hipossuficiente nesse cenário deve dispor de um leque de opções que garantam diversificação em sua matriz energética. Nessa compreensão, nas últimas décadas, os óleos residuais de fritura (ORF) surgem como uma alternativa viável para produção de biocombustíveis, em sua grande maioria, estes óleos, são resultados dos procedimentos realizados em cantinas, lanchonetes, cozinhas industriais, comerciais e domésticas. Os óleos vegetais, classificados como triglicerídeos, podem sofrer processo de transformação e serem convertidos a biodiesel, através da ajuda de catalisadores químicos ou biológicos. Neste entendimento este trabalho tem como objetivo principal investigar a viabilidade de produção de biodiesel a partir da transesterificação do óleo residual de soja utilizando biocatalisadores como uma das alternativas para produção de biocombustíveis. Nesse estudo foi utilizado como biocatalisador a enzima Lipase B de *Candida antarctica* (CALB) imobilizada em nanopartículas magnéticas e a *Eversa® Transform 2.0*. A metodologia inicialmente abordou um aprofundamento da temática, captação de matéria prima e seu tratamento, bem como a realização de práticas de síntese de nanopartículas, caracterização do ORF e reações de produção de biocombustíveis por biocatálise. Neste trabalho, foi produzido biodiesel a partir da esterificação enzimática do ORF, que tem como predominância em sua composição o ácido oleico e o ácido linoleico. O ORF foi hidrolisado por rota química e seus ácidos graxos livres foram esterificados na presença de metanol e etanol, via rota enzimática, na proporção molar de 1:1, temperatura de reação de 37 °C, agitação de 150 rpm e tempos reacionais variando de 2 a 8h. Como catalisadores, utilizaram-se a lipase CALB e *Eversa® Transform 2.0*, nas formas livres e imobilizadas em nanopartículas magnéticas de ferro (Fe₃O₄) em quantidade equivalente a 80 UpNPB⁻¹. Ao final comparou-se os resultados de rendimentos obtidos nas esterificações, nos quais, alguns resultados foram promissores com destaque para a utilização da enzima Eversa de forma livre utilizando o metanol, que conseguiu converter 77% da mistura em biodiesel, no entanto, no reciclo é recomendado que algumas condições reacionais (Temperatura, quantidade horas e outros) devem ser otimizadas para emprego eficiente da enzima no processo de produção de biodiesel.

Palavras-chave: Biodiesel. *Eversa Transform 2.0*. Lipase CALB. Óleos Residuais de Fritura.

ABSTRACT

Diversification and the search for energy have made the different countries invest in technologies and processes that favor the emergence of new and economically viable energy sources. Thus, for a country to be hyposufficient in this scenario, it must have a range of options that guarantee diversification in its energy matrix. In this understanding in the last decades, residual frying oils (ORF) have emerged as a viable alternative for the production of biofuels, most of which are the result of procedures carried out in canteens, cafeterias, industrial, commercial and domestic kitchens. Vegetable oils classified as triglycerides can undergo a transformation process and become biodiesel, either with the help of chemical or biological catalysts. In this understanding, this work has as main objective to investigate the feasibility of producing biodiesel from the transesterification of residual soybean oil using biocatalysts as one of the alternatives for the production of biofuels. In this study, the enzyme Lipase B from *Candida antarctica* (CALB) immobilized on magnetic nanoparticles and Eversa® Transform 2.0 were used as biocatalyst. The methodology will initially approach a deepening of the theme, capture of raw material and its treatment as well as the accomplishment of practices of synthesis of nanoparticles, characterization of the ORF and reactions of production of biofuels by biocatalysis. In this work, biodiesel was produced from the enzymatic esterification of ORF, in which oleic and linoleic acid predominate in their compositions. The ORF was hydrolyzed by chemical route and its free fatty acids were esterified with methanol and ethanol, via enzymatic route, in a molar ratio of 1:1, reaction temperature of 37°C, stirring of 150 rpm and reaction times ranging from 2 to 8 hours. As catalysts, lipase CALB and Eversa® Transform 2.0 were used, in free forms and immobilized on magnetic iron nanoparticles (Fe_3O_4) in an amount equivalent to 80 UpNPBg^{-1} . At the end, the results of yields obtained in the esterifications were compared, in which, some results were promising, highlighting the use of the free form Eversa enzyme using methanol, which managed to convert 77% of the mixture into biodiesel, however, in the recycling It is recommended that some reaction conditions (Temperature, number of hours and others) should be optimized for efficient use of the enzyme in the biodiesel production process.

Keywords: Biodiesel. Eversa Transform 2.0. CALB lipase. Residual Frying Oils.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01:	Estrutura geral genérica dos óleos vegetais.	19
Figura 02:	Diferentes mecanismos reacionais observados pela catálise conduzida pela lipase B de <i>Candida antarctica</i> .	23
Figura 03:	Sítio ativo da lipase B de <i>Candida antarctica</i> (CALB).	24
Figura 04:	Métodos de imobilização de Biomoléculas.	25
Figura 05:	Estrutura tridimensional da lipase B <i>Candida antarctica</i> .	26
Figura 06:	Participação de energias renováveis na matriz energética.	32
Figura 07:	Oferta Interna de Energia no Brasil (OIE) – 2020 (%).	33
Figura 08:	Esquema de uma reação de transesterificação.	36
Figura 09:	Etapas de uma reação de transesterificação.	36
Figura 10:	Percentual de produção de Biodiesel em cada região do Brasil.	40
Figura 11:	Participação de matérias primas na produção do Biodiesel.	41
Figura 12:	Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de Minas Gerais.	42
Figura 13:	Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de São Paulo.	42
Figura 14:	Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de Goiás.	43
Figura 15:	Óleo em repouso (a esquerda) e óleo particulado (agitado).	45
Figura 16:	Etapas do processo de degomagem: (a) Aquecimento do óleo residual; (b) Decantação após 30 minutos.	46
Figura 17:	Estufa de esterilização e secagem.	48
Figura 18:	Sequência de síntese de nanopartículas magnéticas: (a) início da produção de nanopartículas; (b) finalização da nanopartícula; (c) lavagem e separação para secagem da nanopartícula magnética; (d) nanopartícula magnética produzida e seca.	49
Figura 19:	Processo de filtração do Óleo Residual de Fritura: (a) Óleo Residual de fritura coletado; (b) filtração do óleo; (c) Óleo filtrado; (d) resíduos da filtração-vista de cima; (e) resíduo da filtração-vista frontal.	52
Figura 20:	Síntese de ésteres utilizando óleo de fritura e os álcoois etílico (1:1) e metílico (1:1) como sistemas alcoólicos e as enzimas EVERSA e CALB	55

como catalisadores: (A) Enzima EVERSA com (■) etanol e (●) metanol; (B) Enzima CALB com (■) etanol e (●) metanol; (C) Enzimas (▲) EVERSA e (○) CALB com etanol e (D) Enzimas (▲) EVERSA e (○) CALB com metanol.

Figura 21: Rendimento do biodiesel e reutilização da lipase imobilizada: (A) Enzima EVERSA com (■) etanol e (●) metanol; (B) Enzima CALB com (■) etanol e (●) metanol; Reação condições: razão molar óleo/álcool (1:1); dosagem de catalisador, $A_{T=80} = 80 \text{ U.g}^{-1}$; tempo de reação: ciclos de 8 h cada, totalizando 24 h no final; temperatura de reação, 37°C. 58

LISTA DE SIGLAS/ABREVIACOES

APTS	Aminopropiltriétoxisilano
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
CALB	Lipase B de <i>Candida antarctica</i>
CEMIG	Companhia Energética de Minas Gerais S.A.
CO	Monóxido de Carbono
CO ₂	Dióxido de Carbono
CNI	Confederao Nacional da Indústria
ETA	Estaao de Tratamento de guas
ETE	Estaao de Tratamento de Esgotos
ET2.0	Eversa® Transform 2.0
GEE	Gases do Efeito Estufa
IA	ndice de Acidez
IPECE	Instituto de Pesquisa e Estratégia Econmica do Ceará
MME	Ministério de Minas e Energia
MW	Megawatt
MtCO ₂ -eq	Milhões de toneladas de dióxido de carbono equivalente
NPM-Fe	Nanoprculas Magnéticas de Ferro
NPM	Nanoprculas Magnéticas
OCDE	Organizao para a Cooperao e Desenvolvimento Econmico
ORF	leo Residual de Frituras
pH	Potencial Hidrogeniônico
PNPB	Programa Nacional de Produo e uso do Biodiesel
RPM	Rotaes por minuto
UNILAB	Universidade da Integrao Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
2. OBJETIVOS	18
2.1 Objetivo Geral	18
2.2 Objetivos Específicos	18
3. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	19
3.1 Óleos vegetais e residuais.....	19
3.2 Enzimas	20
3.2.1 Lipases.....	21
3.2.2 Mecanismo catalítico das lipases.....	22
3.2.3 Imobilização de lipases.....	24
3.2.4 Lipase B de <i>Candida antarctica</i> (CALB).....	26
3.2.5 Lipase Eversa® Transform 2.0.....	27
3.3 Nanopartículas Magnéticas de Ferro (NPM-Fe)	27
3.4 Matriz Energética	29
3.4.1 Matriz energética mundial	30
3.4.2 Matriz energética brasileira.....	32
3.5 Energia de Biomassa	34
3.6 Histórico do Biodiesel no Mundo e no Brasil	35
3.6.1 Biodiesel no mundo	37
3.6.2 Biodiesel no Brasil	37
4. METODOLOGIA.....	44
4.1 Materiais e métodos.....	44
4.1.1 Obtenção da matéria prima.....	44
4.1.2 Enzimas utilizadas	44
4.1.3 Pré-tratamento do óleo residual de frituras (ORF)	45
4.1.4 Índice de acidez (IA) e Hidrólise de ORF	46
4.1.5 Teor de umidade	47
4.1.6 Síntese de nanopartículas de magnetita (Fe ₃ O ₄).....	48
4.1.7 Tratamento do suporte com g-aminopropiltriétoxissilano (APTS).....	49
4.1.8 Reticulação com solução de glutaraldeído (GA).....	49
4.1.9 Imobilização	49
4.2 Determinação de ativação enzimática.....	50

4.2.1 Esterificação enzimática	50
4.2.2 Produção de biodiesel por catálise enzimática	51
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
5.1 Caracterização do óleo residual de frituras (ORF)	52
5.2 Análise das reações de esterificação.....	55
6. CONCLUSÃO.....	60
REFERÊNCIAS	61

1 INTRODUÇÃO

A energia move o mundo, isso é fato. Desde a antiguidade os seres humanos mais primitivos precisaram de energia para desenvolverem suas atividades cotidianas. A descoberta do fogo foi uma das primeiras maneiras que o homem encontrou para transformar a energia e foi assim até a descoberta do petróleo e seus derivados, uma fonte de energia que por muitas décadas auxilia o homem e a sociedade em seu desenvolvimento e progresso (TOLMASQUIM, 2016).

A utilização do petróleo vem sendo feita de maneira exaustiva devido a sua versatilidade, apesar de ser utilizado como fonte principal de combustíveis automotivos, como a gasolina e o óleo diesel é também um matéria-prima bastante utilizada na fabricação de plásticos, tintas, borrachas sintéticas dentre outros produtos, desta forma sua utilização atrelada ao crescimento populacional vem requerendo cada vez mais o uso desse e outros tipos energéticos (LORA; VENTURINI, 2012).

Por se tratar de um combustível fóssil altamente utilizado, apresenta-se como uma fonte de energia de importância vital para o abastecimento e o funcionamento das sociedades, sendo portanto um recurso estratégico, ou seja, para seus detentores, além de uma fonte de renda estes combustíveis não renováveis também funcionam como fonte de poder, ocasionando um monopólio do petróleo por países e nações que não oportunizam a outras nações, sua exploração aplicando taxas elevadíssimas para refino e distribuição (LORA; VENTURINI, 2012; SILVA *et al.*, 2020).

Nesse entendimento e partindo de um pressuposto da necessidade do desenvolvimento da economia sustentável, diversas medidas devem ser adotadas pelo homem para a sua convivência harmônica com a natureza a fim de diminuir ou minimizar os impactos provocados pelo uso de combustíveis fósseis (MARTINS *et al.*, 2015).

O desenvolvimento de fontes alternativas energéticas cresce de forma rápida a fim de reduzir a dependência energética e econômica de combustíveis fósseis, diminuir as emissões de gases de efeito estufa (GEE), frente ao aquecimento global e a diversificação da matriz energética do país de forma renovável (EPE, 2020).

O Brasil, mesmo sendo um país em desenvolvimento, se apresenta nesse cenário com grande potencial para desenvolver diversas formas de energias limpas e renováveis, no entanto,

apesar de apresentar grande viabilidade de energia hidrelétrica, ele também poderá se destacar no desenvolvimento de energias solar, eólica e principalmente em biomassa (BEN, 2021; LORA; VENTURINI, 2012).

A biomassa sob forma de cana de açúcar é bastante utilizada na matriz energética brasileira, desde a década de 1970, quando houve a crise energética e a criação do programa PROÁLCOOL, no entanto, existem diversas formas de aproveitamento de biomassa, dentre elas, a transformação de óleos vegetais para a produção de biodiesel (CORTEZ, 2018; LORA; VENTURINI, 2012).

O biodiesel, pode ser definido como sendo um combustível renovável proveniente de plantas oleaginosas ou de gorduras animais. Podendo este ser utilizado na combustão de motores de ciclo diesel de forma parcial ou total (BIODIESELBR, 2006; BRASIL, 2005).

A produção do biodiesel é proveniente de uma reação de transesterificação. Nesse tipo de reação, o óleo ou gordura interage com um catalisador, sendo esse catalisador químico ou enzimático, que ao final da reação formará como produtos majoritários, o próprio biodiesel e glicerina (RAMOS *et al.*, 2011).

A utilização de catalisadores biológicos heterogêneos para produção de biodiesel vem se destacando no cenário nacional e internacional, pois ao final das reações podem ser reutilizados, não formam resíduos ou minimizam essa produção, apresenta fácil separação de fases, são mais seletivos, o que favorece a formação do produto desejado, além de não contaminarem o sistema reacional, desta forma barateando os custos do processo (MALESKI, 2018).

O reaproveitamento de óleo residual pelo processo biocatalítico para produção de biodiesel desponta como uma forma de preservação ambiental, pois sendo este resíduo descartado de forma costumeira e indevidamente na natureza, gera grandes prejuízos ambientais, dessa forma, esse reaproveitamento traz benefícios não só ao meio ambiente, mas coopera para a produção de energia limpa e renovável, sendo o setor privado e empresas de *fastfood* responsáveis pela logística reversa desse tipo de resíduo (BIODIESELBR, 2019).

Outro benefício advindo da reutilização de óleo residual para geração de biodiesel consiste na diminuição das emissões de dióxido de carbono (CO₂), pois a sua incorporação ao diesel gera menores quantidade desse poluente. Essa redução ficará em torno de 13 a 15% nos

próximos anos, pois se acredita que essa diminuição está também relacionada às melhorias das tecnologias para a produção e aperfeiçoamento das técnicas em biotecnologias e o surgimento de novas bioenergias (CARVALHO; RIBEIRO, 2012; DA SILVA *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2020).

No atual cenário mundial da pandemia de Covid-19, Rocha (2020), mostra que o investimento em energias renováveis foi o que menos sofreu com os impactos de produção e financeiramente provocados por essa pandemia. As energias renováveis foram as únicas formas energéticas que não sofreram depressões de demanda, seja por prioridade no despacho ou por expansão na oferta. Conforme dados de no início de maio/2020 pela IEA (International Energy Agency), pelo relatório “Global Energy Review 2020 – The impacts of Covid-19 crisis on global energy demand and CO₂ emissions.

Ainda segundo Rocha (2020) a expansão do sistema energético no pós-Covid deverá ser retomada utilizando-se esse tipo de energia, entendendo que a baixa nas energias convencionais poderá ser percebida como uma oportunidade para reconstrução das economias de uma maneira, mais sustentável, uma vez que estas se apresentam maduras e competitivas, e, portanto, podem ser escolhidas para atender a uma retomada da demanda nos próximos anos.

Nesse entendimento, a busca por energias que possam complementar as já existentes derivadas de combustíveis fósseis, seu fortalecimento e investimentos e a premissa de um planeta sustentável complementa a ideia deste trabalho, a modificação de óleo residual de frituras (ORF) objetivando a produção de biodiesel se apresenta como uma estratégia importante e viável alternativa para atender a essa demanda de procura energética.

Dessa forma, acredita-se que um aliado muito importante nessa produção de biocombustível seja os catalisadores biológicos (enzimas) uma vez que, elas atuam como suportes muito eficientes, pois a catálise heterogênea apresenta a vantagem de reuso (CORDEIRO *et al.*, 2011).

Apesar de enzimas apresentarem-se como um biocatalisador homogêneo, solúvel, ao passar pelo processo de imobilização em nanopartículas magnéticas de ferro (Fe₃O₄) (NPM), ou por qualquer outro processo imobilizatório, este se torna um ótimo catalisador heterogêneo, desta forma promovendo sua reutilização e recuperação ao final do processo, atendendo aos

princípios da química verde e conferindo maior estabilidade térmica ao derivado (NIERO *et al.*, 2019; SILVA, 2017).

Segundo as análises de Souza (2013) as nanopartículas magnéticas de ferro (NPM-Fe) são utilizadas como suporte para a imobilização de lipase B de *Candida antarctica* (CALB) dessa forma podendo ser utilizado na catálise do biodiesel a partir dos óleos vegetais. As NPM-Fe são particularmente importantes para imobilização enzimática devido as suas propriedades magnéticas que são facilmente separadas do meio reacional, através da utilização de magnetismo, e a sua dimensão da partícula, permiti o melhoramento da resistência química e mecânica, beneficiando assim a reutilização da enzima nos processos industriais (CAVALCANTI, 2020).

Nessa compreensão, pode-se perceber que o uso de enzimas imobilizadas em NPMs está sendo utilizado em vários processos industriais principalmente na produção de biocombustíveis a partir de óleos residuais de frituras (ORF) (FURLANI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020). Esse resíduo sólido quando descartado indevidamente poderá acarretar diversas problemáticas, entre essas podemos destacar poluição das águas de rios e lençóis freáticos ou até mesmo o entupimento de tubulações findando em problemas nas estações de tratamento de água (ETA) e esgoto (ETE), dessa maneira elevando os custos com o tratamento dessas águas contaminadas (BARBOSA *et al.*, 2019).

Outra enzima utilizada nesse trabalho é a *Eversa® Transform 2.0*, essa enzima encontra-se no estado líquido proveniente da modificação genética da *Thermomyces lanuginosus*, introduzida no mercado pela *Novozymes*. apresentando baixo custo, alta especificidade para matérias-primas e alta atividade em condições amenas (CHANG; CHAN; SONG, 2021; FRAGA *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2021; MONTEIRO *et al.*, 2021).

Segundo, Barbosa *et al.*, (2007) e Costa *et al.*, (2010), os custos com tratamento de água que são contaminadas com óleo residual fica no entorno de para cada um litro despejado no esgoto urbano cerca de um milhão de litros de água. Caso não haja tratamento a expectativa é que um litro do produto pode ser capaz de contaminar até um milhão de litros de água – quantidade suficiente para o consumo de uma pessoa durante 14 anos (DOS SANTOS *et al.*, 2017).

No intuito de minimizar essa problemática o reaproveitamento desse tipo de óleo contribuirá de forma significativa para o meio ambiente, uma vez que servirá para produção de um insumo, biodiesel, necessário as gerações futuras, sendo uma alternativa de energia limpa e renovável. Através da reação de transesterificação por catálise enzimática a transformação do óleo de frituras poderá corroborar com um biocombustível de boa qualidade e com a sustentabilidade do planeta, uma vez que por esta via enzimática as reações ocorrem de forma mais brandas de temperatura (MESSIAS *et al.*, 2011).

Moazeni; Chen e Zhang (2019), destacam que a utilização do óleo residual é um bom promissor para a produção de biodiesel pois são de gerações diferentes, dessa forma não competem com alimentos (AKBAR *et al.*, 2009) e são baratos de serem obtidos (KUMAR; SHARMA, 2011) e bastante fácil de se processar (KNOTHE *et al.*, 2015).

Nesse entendimento, a logística reversa do Óleo Residual de Frituras (ORF) é outro ponto que merece atenção. Uma das maiores dificuldades encontradas na coleta e armazenamento desse resíduo está na incapacidade de conscientização para o descarte correto desse resíduo sólido e somada a isso as dificuldades desse processo é a coleta em diversos pontos com diferentes volumes. Uma solução viável seria a criação de cooperativas ou locais específicos de coletas para assim ocorrer uma destinação correta desse material (FILHO, 2018).

Este trabalho visa o aproveitamento de ORFs óleos para a produção de biodiesel. Para este fim pretende-se utilizar catálise enzimática aplicando-se a lipase CALB e a Lipase Eversa® Transform 2.0 de forma livre e imobilizada e após a realização desse procedimento, realizar comparações de aproveitamento e disponibilizar esses resultados em relação à produção de biodiesel. Perante o exposto, almeja-se, portanto, os seguintes objetivos listados no próximo tópico.

2 OBJETIVOS

2.1 GERAL

Investigar a viabilidade de produção de biodiesel a partir da transesterificação do óleo residual de soja utilizando dois biocatalisadores, Lipase CALB e Eversa® Transform 2.0.

Para expandir as discussões sobre a temática busca-se como objetivos específicos os listados abaixo:

2.2 ESPECÍFICOS

Realizar o pré-tratamento do óleo residual de fritura (ORF) para produção de biodiesel;

Comprovar a eficiência da etapa de pré-tratamento realizando testes de índice de acidez;

Reaproveitar óleo residual de fritura (ORF) para a produção de biodiesel;

Modificar o ORF para obtenção de uma mistura de ésteres com potencial para obtenção de biodiesel;

Aplicar a enzimas imobilizadas em nanopartículas magnéticas na síntese enzimática dos ésteres: biodiesel a partir de óleo residual.

Reciclar os biocatalisadores utilizados durante o processo.

3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

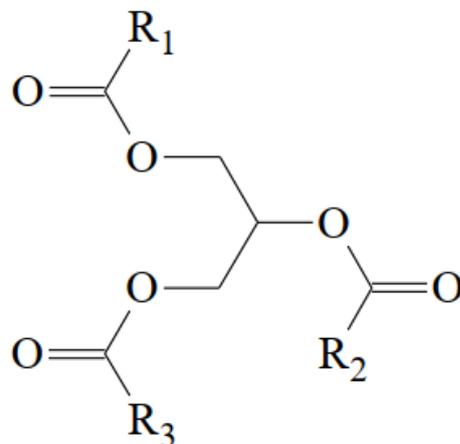
Nessa parte do texto destaca-se um pequeno levantamento bibliográfico a respeito dos biocatalisadores, matriz energética e produção de biocombustíveis, parte fundamental para a compreensão da valorização dos óleos residuais de frituras e sua biotransformação em biocombustíveis.

3.1 ÓLEOS VEGETAIS E RESIDUAIS

Óleos são substâncias de natureza lipídica de origem vegetal, com baixa insolubilidade em água, porém com boa afinidade pelos compostos orgânicos sendo, portanto, considerado solúveis em solventes orgânicos. De forma generalista, os óleos são classificados de acordo com suas características físicas e bioquímicas, a saber: em temperatura ambiente apresentam-se na forma líquida e com baixa viscosidade. Apresentam também triglicerídeos ou triacilgliceróis, pois quimicamente estabelecem ligações químicas entre três moléculas de ácidos graxos e uma de glicerol (LAGO *et al.*, 1997 *apud* VELOSO *et al* 2012).

Os óleos vegetais são classificados como triglicerídicos que podem sofrer processo de transformação e virar biodiesel, dentre os vegetais que podem servir como matéria-prima para a produção desse biocombustível pode-se citar: grãos (amendoim), amêndoas (coco de dendê, coco praia, coco babaçu), polpas (de dendê, abacate), caroços (algodão, oiticica), sementes (colza, maracujá, linhaça e tomate) e bagas (mamona) (PARENTE, 2003; TIRITAN *et al.*, 2020).

Figura 01 – Estrutura geral genérica dos óleos vegetais



Fonte: Autor, 2022.

Os óleos residuais de fritura (ORF) em sua grande maioria são resultados dos procedimentos realizados em cantinas, lanchonetes, cozinhas industriais, comerciais e domésticas. Segundo Parente (2003) os óleos de frituras representam um grande potencial de oferta no país. Estima-se que o Brasil superaria a marca de 30 mil toneladas desse resíduo sólido por ano. Para Santos (2009) a quantidade de óleos consumidos chegaria à marca de 9,0 bilhões de litros de por ano, no entanto, apenas 2,5% desse resíduo chegaria a ser reutilizado (DE SOUZA RODRIGUES *et al.*, 2021).

Estudos mostram que a logística reversa dos óleos residuais fica mais a cargo de grandes empresas de ramos de *fastfoods*. Estatísticas recentes mostram que a JBS Biodiesel fabricou um pouco menos de 260 milhões de litros de biodiesel biocombustível em 2018, um aumento de 22,5% em relação ao ano de 2017. Desse total, cerca de 12,5% vieram do reaproveitamento de óleo de soja usado. Isso representa cerca de 32,5 milhões de litros de biodiesel fabricados a partir da reciclagem de óleo de fritura. Segundo dados das Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2018), a produção de biodiesel a partir de óleos e gorduras reaproveitados representou 88,2 milhões de litros em 2018 (BIODIESELBR, 2019).

O processo de fritura é um processo complexo que ocorre há elevadas temperaturas entorno de 150°C a 200°C, esse processo de aquecimento leva a formação de vários compostos voláteis e não voláteis que variam conforme a composição do óleo e do alimento a ser frito. Tais compostos originados nesse processo incluem oxidação, hidrólise, polimerização, isomerização e decomposição do óleo que permanecem no óleo causando alterações em suas propriedades físicas e químicas (FONSECA *et al.*, 2019).

Atualmente, 95% da produção de biodiesel é proveniente de óleos comestíveis em todo o mundo, enquanto os óleos reciclados e as gorduras animais contribuem com 10% e 6%, respectivamente (MATHEW *et al.*, 2021).

3.2 ENZIMAS

Enzimas são proteínas formadas por subunidades de aminoácidos (entre 62 a 2.500 resíduos de aminoácidos), combinadas por ligações peptídicas. Os resíduos de aminoácidos formam ligações covalentes entre si, pelo grupo amino de um aminoácido com o grupamento carboxílico de outro aminoácido, constituindo cadeias polipeptídicas extensas, que assumem

um arranjo espacial e estrutural complexo (NELSON; COX, 2014; VOET; VOET, 1995. *Apud* Souza, 2013).

Elas são biocatalisadores naturais de origem proteica que atuam com especificidade nas reações químicas e, sendo consideradas de muita importância para o desenvolvimento de várias reações bioquímicas de importância industrial, uma vez que diferentemente dos químicos, são mais aceitas, por serem menos poluidoras e por desenvolverem velocidades superior frente a outros tipos de catalisadores (TAN *et al.*, 2010; BORNSCHEUER *et al.*, 2018).

Para Souza (2013), no referido ano, o mercado mundial de enzimas arrecadou cerca de US \$ 4,0 bilhões, sendo dividido em enzimas para limpeza doméstica, alimentos e bebidas, bioenergia, ração animal e outras enzimas técnicas, micro-organismos e biofarmacêuticos. No ano de 2017, o mercado global de enzimas foi avaliado em US\$ 7,1 bilhões e deverá chegar a US\$ 10,5 bilhões em 2024, com uma taxa de crescimento anual de 5,7% de 2018 a 2024, sendo que a Europa foi responsável por 1/3 de produção global de enzimas em 2017, e no mesmo ano, estimou-se que cerca de 70% da quota de mercado de enzimas era produzida por microrganismos. Diversas enzimas, como, *proteases, amilases, lipases, celulasas, xilanases e fitases* são utilizadas industrialmente, sendo os maiores produtores as empresas Gist-Brocades (Holanda), Genencor International (Finlândia) e *Novozyme* (Dinamarca) (RIGO *et al.*, 20121 *Apud* Papadaki *et al.* 2020).

Dentre os grupos de enzimas destacam-se as lipases, devido à gama de reações catalisadas em sistemas orgânicos com baixo teor de água (esterificação, interesterificação, aminólise, lactonização), à alta estabilidade nestes ambientes e à possibilidade de utilização em condições brandas de reação. Essa flexibilidade aliada às diferentes lipases confere a essas enzimas um potencial enorme de aplicações (KIM; YOUN; SHIN, 2006; YIN; LIU; TAN, 2006; SOUZA, 2013).

3.2.1 Lipases

As lipases são enzimas que modifiquem lipídios, ou seja, são as enzimas que são responsáveis por realizar a conversão dos triglicerídeos em ácidos graxos livres (AGL) (WINKMARK, 2015), podendo ser classificadas por alguns autores como carboxilesterases, pois apresentam a capacidade de hidrolisar acilgliceróis de cadeia longa contendo estes mais de dez carbonos (COSTA *et al.*, 2011).

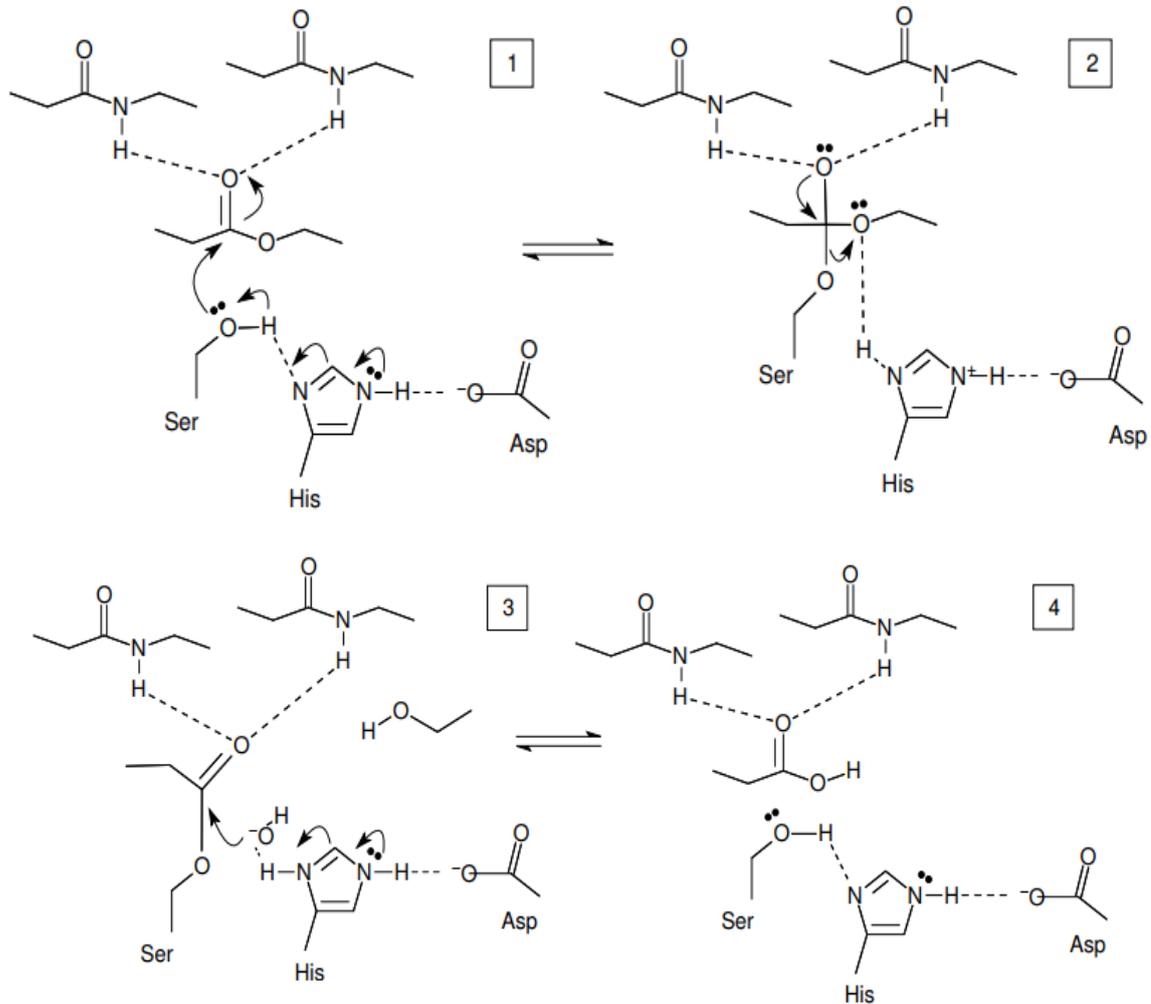
As lipases, são classificadas dentro da classe enzimática como hidrolases (WINKMARK, 2015), pois realizam a hidrólise de ligações éster carboxílicas de triacilgliceróis, a fim de liberar ácidos orgânicos e glicerol (FERNANDES, 2013). Elas são vastamente empregadas devido a sua alta eficiência e enorme seletividade, podendo atuar de forma quimio, régio e enantioseletiva, apresentando-se como biocatalisadores flexíveis e estáveis (VERMELHO *et al.*, 2008. ANGAJALA, 2016).

Além das características anteriormente mencionadas, apresentam certa faixa de pH para agirem, trabalham a baixa temperatura, são estáveis a altas temperaturas (THAKUR, 2012) em sua vasta maioria não necessitam da presença de um cofator (COSTA *et al.*, 2011) e apresentam baixo custo, pois podem ser encontradas em plantas, microrganismos e animais (THAKUR, 2012).

3.2.2 Mecanismo catalítico das lipases

Desde a década de 60, os estudos sobre lipases revelam que existe um aumento enzimático quando estas encontram-se na presença de interfaces orgânico-aquosas, uma vez que o contato entre a enzima e uma interface água-lipídio provoca alterações conformacionais na enzima, gerando um fenômeno denominado de ativação interfacial (VERMELHO *et al.*, 2008).

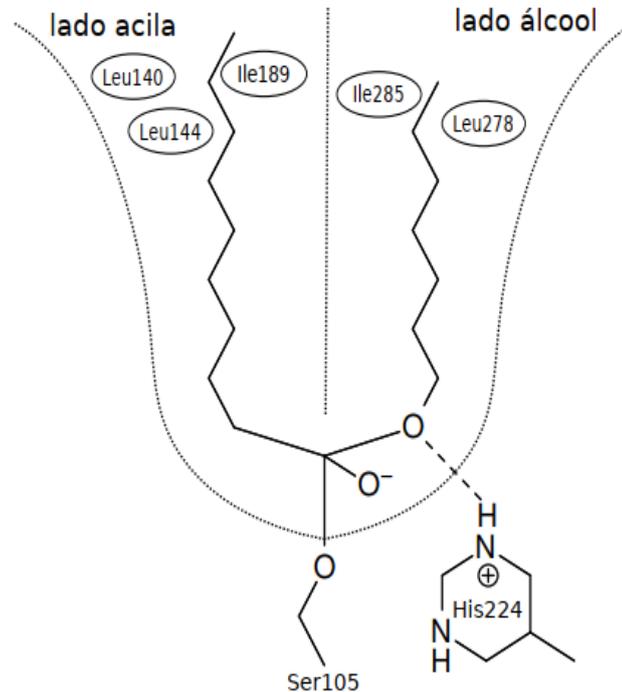
Figura 02 – Diferentes mecanismos reacionais observados pela catálise conduzida pela lipase B de *Candida antarctica*



Fonte: SOUZA, 2013.

Este fenômeno contribuiu posteriormente para a descoberta de que nem todas as enzimas possuíam a ativação interfacial, como é o caso da lipase B de *Candida antarctica* B(CALB), o que possibilitou o desenvolvimento de novas pesquisas e metodologias sobre a região interfacial da enzima, fornecendo tanto informações sobre a estereoseletividade de lipases como também a influência das propriedades macroscópicas do meio sobre a enzima (VERMELHO *et al.*, 2008).

Figura 03 – Sítio ativo da lipase B de *Candida antarctica* (CALB)



Fonte: SOUZA, 2013.

3.2.3 Imobilização de lipases

Os estudos sobre imobilização enzimática vêm sendo descritos desde 1970, sendo definido na Primeira Conferência de Engenharia Enzimática como um processo físico no qual as enzimas ou sistemas enzimáticos permanecem confinados ou retidos em um determinado local com retenção de suas atividades catalíticas, podendo ser reaproveitados e reutilizados por diversas vezes (CARVALHO *et al.*, 2015).

O processo de imobilização de uma enzima consiste na mesma estar ligada a um suporte sólido ou retida no interior de uma matriz, podendo o método de imobilização ser classificado, quanto ao tipo de interação ou quanto a natureza do suporte, cabendo ressaltar a adsorção em um suporte, a ligação covalente em um suporte e o encapsulamento (HARTMANN *et al.*, 2020).

A imobilização de biomoléculas envolve a ligação de um alvo de origem biológica (enzima, anticorpo, DNA etc.) na superfície de uma matriz insolúvel (suporte). Esse processo de imobilização pode ocorrer de diversas formas, a depender do objetivo da pesquisa e de modo

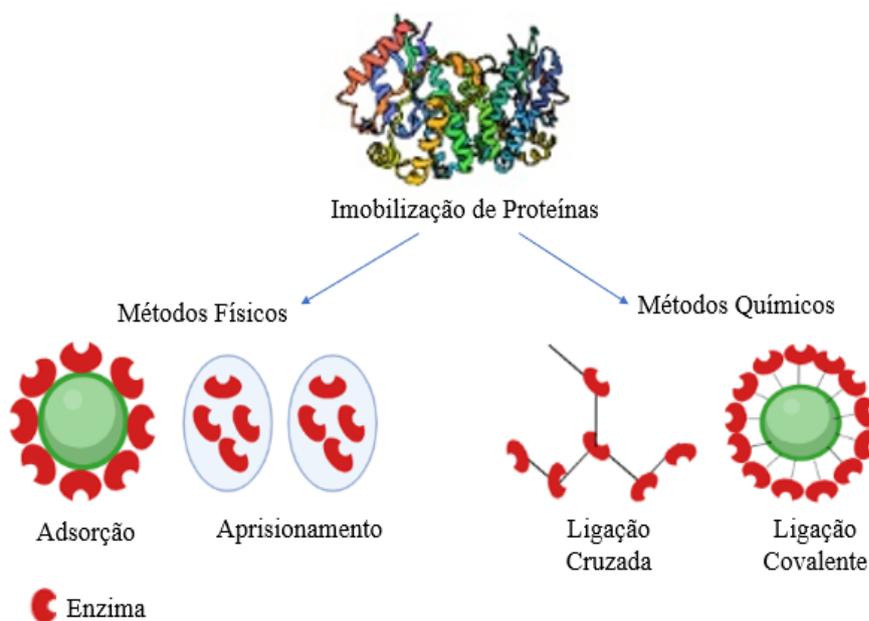
geral podem ser divididos em processos imobilizatórios físicos ou químicos (FURLANI *et al.*, 2020).

A técnica chamada adsorção física emprega a utilização de forças de interações fracas, como por exemplo, forças de Van Der Waals, o que não prejudica/modifica o sítio ativo da enzima. Na adsorção iônica, pelo efeito dos íons, ocorre a atração da enzima pelo suporte sólido no qual contém íons (CARVALHO *et al.*, 2015; FURLANI *et al.*, 2020).

Em relação a interação existente no tipo ligação covalente para a imobilização de enzimas diz-se que ocorre modificação na superfície do suporte fazendo o uso de agentes bifuncionais, tratando-se de uma técnica eficiente, porém irreversível para a enzima, podendo haver alteração no sítio ativo da enzima (FURLANI *et al.*, 2020).

Na técnica de imobilização por encapsulamento, esta, consiste na utilização de um meio semipermeável reticulado, contendo poros de pequeno tamanho a fim de impedir a passagem da enzima e liberar a passagem dos substratos, ou em microcápsula a fim de envolver a enzima. Para este método observa-se a não alteração estrutural da enzima (CARVALHO *et al.*, 2015; FURLANI *et al.*, 2020).

Figura 04 – Métodos de imobilização de Biomoléculas



Fonte: Autor, 2022.

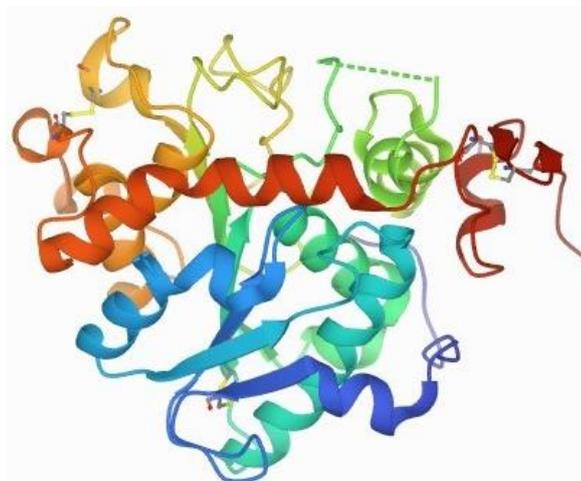
Como visto anteriormente, existem diversos métodos para o processo de imobilização de lipases, estes consistem em dar melhor estabilidade ao processo, aumentando a estabilidade reacional e diminuindo custos. Diversos tipos de suportes para imobilização de enzimas têm sido estudados nos últimos anos, merecendo destaque as nanopartículas magnéticas (DUGUET *et al.*, 2006 *apud* SOUZA, 2013).

3.2.4 Lipase B de *Candida antarctica* (CALB)

Inicialmente os estudos relacionados a lipase CALB foram realizados com a finalidade de serem aplicadas em diversos setores industriais, como as indústrias de alimentos, farmacêuticas, detergentes, cosméticos, têxteis, oleoquímica e papel (HASAN; SHAH; HAMEED, 2006, *apud* SOUZA, 2013).

A CALB pertence à família das α/α -hidrolases, um monômero em forma de globo com dimensões 30°A x 40 °A x 50 °A, peso molecular 33,273 kDa, e estrutura, possuindo 317 resíduos de aminoácidos, e as pontes dissulfeto formadas entre os resíduos de cisteína ajudam a manter a estabilidade conformacional da proteína, diminuindo a entropia, que está diretamente relacionada com a termoestabilidade da lipase (RABBANI *et al.*, 2015; GUPTA *et al.*, 2015 *apud* TORRES, 2017). Sua estrutura tridimensional pode ser vista logo abaixo.

Figura 05 – Estrutura tridimensional da lipase B *Candida antarctica*



Fonte: *Protein Data Bank (PDB)*, 2022.

Assim com outras lipases, apresenta um sítio ativo na tríade, a CALB também apresenta um sítio ativo baseado em uma tríade catalítica, no caso a Serina-Histidina-Aspartato, contudo diferenciando-se da demais por não possuir ativação interfacial, ou seja, não tem uma “tampa” que controle a entrada do substrato no sítio ativo, estando este prontamente disponível. A estrutura dos canais do sítio ativo a tornam altamente régio e enantioesletivas para álcoois e aminas e pouco enantioesletivas para ácidos carboxílicos (SOUZA, 2013; BLANK *et al.*, 2006; TSAI, 2016 *apud* TORRES, 2017).

3.2.5 Lipase *Eversa*® *Transform* 2.0

Essa enzima foi modificada a partir da lipase líquida derivada de *Thermomyces lanuginosus* e expressa em *Aspergillus oryzae*, com 269 resíduos de aminoácidos na sequência primária, apresentando alta especificidade, baixo custo e alta atividade em condições amenas (CHANG; CHAN; SONG, 2021; FRAGA *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2021; MONTEIRO *et al.*, 2021).

No entanto, apesar de todas essas características de aperfeiçoamento e modificações genéticas para sua melhor aplicabilidade e grande potencial, seu aproveitamento na área industrial foi dificultada, principalmente devido a propriedades não aceitáveis em termos de estabilidade, eficiência catalítica, e especificidade (CHOI; HAN; KIM, 2015; ISMAIL; KASHTOH; BAEK, 2021). A fim de superar essas dificuldade e deficiências, buscou-se como estratégia de superação diversas abordagens de testagens, dentre elas o processo de imobilização, que proporciona maior estabilidade, robustez nas enzimas e alta resistência às reações em condições mais austeras (CAO, 2005; CHOI; HAN; KIM, 2015; FILHO; SILVA; GUIDINI, 2019; NERY; KUBOTA, 2016).

É uma enzima caracterizada com elevada estabilidade e o processo de imobilização induz a redução de sua atividade. A flexibilidade do seu sítio ativo proporciona alta sensibilidade a muitos parâmetros, como mudanças nas condições experimentais e protocolos de imobilização, podendo alterar suas propriedades (FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010, *apud* GODOY, 2019).

3.3 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRO (NPM-Fe)

Por serem catalisadores de alto custo as enzimas devem passar por um processo de imobilização, esse processo garante que ocorra uma reutilização e a recuperação desta forma

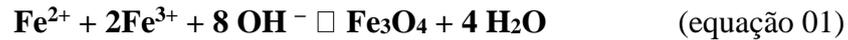
tornando o processo viável economicamente. Nesse contexto a utilização de enzimas imobilizadas permite simplificar o modelo de reatores e o controle da reação. Assim, a imobilização é geralmente um requisito para a utilização de enzimas como biocatalisadores industriais. A escolha do suporte para imobilização depende das propriedades das enzimas a serem imobilizadas (ROCHA, 2016).

Diante do apresentado, as nanoestruturas surgem como uma nova alternativa aos suportes convencionais, possibilitando novas propriedades, como elevada área superficial, maior tolerância a temperatura, boa reatividade química e interações fortes com as enzimas (YONG *et al.*, 2008; LEI *et al.*, 2009; SOUZA, 2013; ROCHA, 2016; FARIAS, 2017).

As nanopartículas exibem propriedades diferentes das moléculas em escala macroscópicas, este fato decorre do efeito de tamanho e superfície que se tornam evidentes em materiais que possuem tamanho entre 1 e 100 nm. Com a diminuição do tamanho médio da partícula, ocorre um aumento da área superficial por volume (CAVALCANTI, 2020; NIERO, 2019; SHALINI *et al.*, 2021; SCHEFER, 2017).

As NPMs são geralmente compostas por óxidos de ferro, no entanto, existem outras NPMs que podem ser obtidas a partir dos elementos níquel (Ni) e cobalto (Co), e também podem possuir a mesma nomenclatura. Na natureza existem diversos tipos de óxidos de ferro, sendo os principais: a ferrihidrita (Fe_5HO_8); a hematita ($\alpha \text{Fe}_2\text{O}_3$), a maguemita ($\gamma \text{Fe}_2\text{O}_3$); e a magnetita (Fe_3O_4). Essas espécies possuem propriedades magnéticas, elétricas, morfológicas e físico-químicas interessantes para a aplicação tecnológica (CAVALCANTI, 2020; NIERO, 2019; SHALINI *et al.*, 2021; SCHEFER, 2017).

A magnetita é um importante minério sendo classificado como um óxido misto com fórmula molecular $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$, onde estão presentes na estrutura os catiônicos Fe^{2+} e Fe^{3+} e que são sintetizados a partir da coprecipitação das misturas de sais em ambiente aquoso seguido de precipitação com hidróxido e atmosfera inerte, conforme a equação 1. Nesse método, pode ocorrer uma grande variação no tamanho. O controle de tamanho, forma e composição das partículas depende da razão estequiométrica entre os cátions, do pH, da velocidade de agitação do sistema e da velocidade de adição do agente redutor (CAVALCANTI, 2020; SHALINI *et al.*, 2021).



Ao realizar a síntese da magnetita, ocorre inicialmente à coordenação das moléculas de água pelos cátions metálicos (M), formando as espécies abaixo:



Essas espécies após sofrerem a hidrólise formam compostos do tipo:



Tais compostos apresentados na expressão 02, se dimerizam com a liberação de água, forçando os oxigênios dos grupos OH^- , a formarem ligações de hidrogênio entre os monômeros. Posteriormente, as espécies hidrolisadas continuam se associando e condensando-se através de ligações de hidrogênio em regiões ausentes de prótons, dando origem às características estruturais específicas da nanopartícula (SOUZA, 2011 *apud* CAVALCANTI, 2021).

3.4 MATRIZ ENERGÉTICA

A premente utilização de energia tem apontado grandes desafios para esta e para as futuras gerações, presume-se que sem energia, a humanidade não tivesse evoluído tal qual a conhecemos, por isso um país que investe em uma matriz energética diversificada e sólida terá poucos problemas a enfrentar. Como afirma Tolmasquim *et al* (2007), matriz energética é o conjunto de todos os recursos energéticos disponíveis em um determinado território. Sendo está de fundamental importância para um país, uma vez que representa de forma quantitativa e orientadora o planejamento de atividades ligadas aos setores de produção, transporte, inovação e venda energética (BOZIO, 2018).

Assim como o ar e água, a energia torna-se um elemento essencial e indispensável aos seres humanos, segundo Goldemberg e Lucon (2007). A energia era obtida, na sociedade primitiva, através da queima de lenha das florestas. Já na idade média foram acrescentadas as energias provenientes da água e do vento, e atualmente, a matriz energética “limpa” vem sendo constituída através dos raios solares, das forças dos ventos, da água e de biomassa. Além dessas Silva (2009) afirma que as fontes não renováveis são, ainda, as mais utilizadas, principalmente, o petróleo e seus derivados (BOZIO, 2018).

3.4.1 Matriz Energética Mundial

A matriz energética mundial, outrora, foi baseada tão somente em fontes não renováveis, como carvão mineral, gás natural e, principalmente, petróleo. Porém, devido a motivos ligados as questões ambientais, as grandes oscilações do preço de barril de petróleo e sua iminente escassez, aliado aos discursos de sustentabilidade essa perspectiva está mudando de modo cada vez mais acelerado. Desta forma também é crescente a busca pelo desenvolvimento de uma matriz energética baseada em combustíveis alternativos renováveis (BEM, 2021; BOZIO, 2018; CAMPOS, 2018; MARQUES *et al.*, 2010).

Existem diversas fontes de energia divididas em dois grandes grupos, as renováveis e não renováveis, sendo que suas quantidades variam de país para país e das características geomorfológicas e climáticas destes. Uma das primeiras formas mais utilizadas pela humanidade como fonte energética advém dos combustíveis fósseis, sendo considerado como não renovável, pois sua formação leva bilhões de anos para serem produzidos, uma vez que sua formação vem da decomposição de restos de plantas e animais (EPE, 2019).

Apesar das benéficas produzidas pela utilização das fontes não renováveis, seus impactos negativos são bem preocupantes para o meio ambiente, uma vez que a combustão desse tipo de energia torna-se grandes poluidores devido a liberação de gases tóxicos poluentes. Dentre eles, monóxido de carbono (CO) e dióxido de carbono (CO₂), este último um dos grandes potenciadores do aquecimento global, somente no ano de 2020, foram emitidos 398,3 milhões de toneladas de CO₂ equivalente (Mt CO₂-eq) sendo a maior parte gerada pelo setor de transportes (BEM, 2021). Além deles são emanados para o meio ambiente outros tipos de compostos que contribuem para outro fenômeno da chamada chuva ácida, são eles: óxidos de enxofre e óxido de nitrogênio (EPE, 2019).

Devido aos grandes impactos negativos provocados pela utilização dos combustíveis não renováveis a humanidade sempre busca e buscou formas, ou alternativas energéticas que causassem menos impactos possíveis e que pudessem ter o mesmo desempenho energético dos combustíveis fósseis. Para isso muitos pesquisadores buscaram alternativas para as chamadas fontes renováveis de energia dentre elas destacamos: energia solar, eólica, geotérmica, hidráulica, nuclear, lenha e carvão vegetal e derivados da cana-de-açúcar, como o álcool, ou seja, a biomassa de forma geral (EPE, 2019).

De acordo com Rocha e Costa (2014) as fontes não renováveis são definidas como aquelas que se utilizam de recursos naturais esgotáveis, ou seja, possuem restrições com relação as suas quantidades, pois se extinguem com a sua utilização em larga escala, apesar de sua extinção não está tão próxima, a preocupação reside na dependência e do monopólio dessas reservas por alguns países (PENA, 2012). Sendo seus principais exemplos, os combustíveis fósseis e os combustíveis nucleares.

Para Miura, 2012, o aumento na oferta de bioenergia traria reduções significativas no uso de combustíveis fósseis, caso acrescentada na matriz energética mundial e como consequência dessa diversificação haveria redução dos impactos sobre a emissão dos gases do efeito estufa (GEE), contribuindo desta forma para um modelo energético mais eficiente e limpos. Os estudos de Wang *et al.*, (2020) mostram que a longo prazo e a melhoria tecnológica para a produção de bioenergia pode potencialmente reduzir o custo de redução de GEE podendo levar a uma redução de emissões em torno de 13,0–15,7% de GEE.

Conforme dados do EPE (2020), somente no ano de 2019, o uso da biomassa brasileira contribuiu de forma decisiva na redução das emissões de GEE na atmosfera. Nos biocombustíveis líquidos, as emissões evitadas pelo uso de etanol e biodiesel, em comparação aos equivalentes fósseis (gasolina e diesel), somaram 69,6 MtCO₂ em 2019, e a bioeletricidade da cana também contribui para a redução das emissões de CO₂. Na geração desses três tipos de bioenergia, foram evitadas emissões totais de 72,3 MtCO₂ (DA SILVA *et al.*, 2021).

Nesse entendimento, percebe-se nas leituras que na última década, no Brasil e no Mundo, a bioenergia foi explorada extensivamente. Uma série de estudos (ver Scheiterle *et al.*, 2017; Fargione *et al.*, 2008; Immerzeel *et al.*, 2014; Tomei e Helliwell, 2016; Silveira *et al.*, 2017; Souza *et al.*, 2017; Curtright *et al.*, 2012; Lewandowski, 2015; Purkus *et al.*, 2017; Burg *et al.*, 2018; Paul e Dutta, 2018; Santos *et al.*, 2018; He *et al.*, 2018; Shao e Rao, 2018) destacou as vantagens do desenvolvimento da bioenergia no sentido de redução das emissões de GEE (BALEŽENTIS *et al.*, 2019).

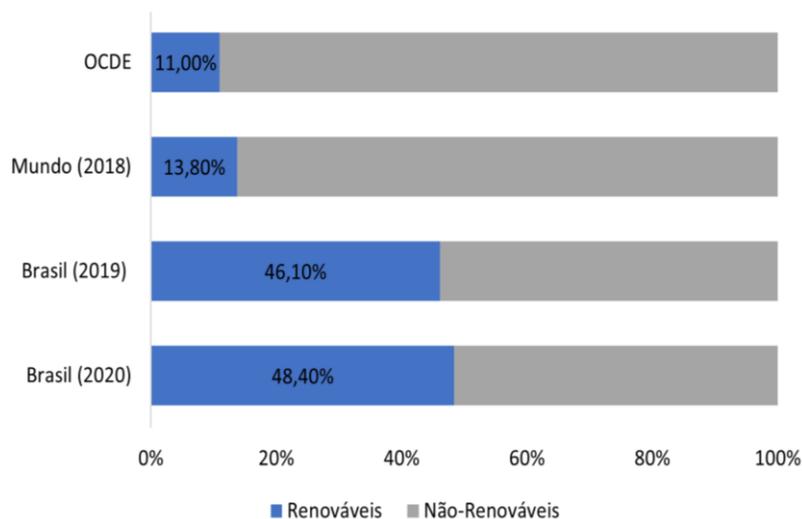
Portanto, se implementadas de forma adequada, as fontes de energia renováveis, além de prover reduções de GEE, também contribuiriam para o desenvolvimento social e econômico, para a democratização do acesso à energia e para a decaimento de efeitos prejudiciais ao meio ambiente e a saúde, promovendo diversificação na matriz energética oportunizando concorrência e o uso de outros tipos de energia impactando a hegemonia e a exclusividade no

uso de energias não-renováveis advindas principalmente do uso exclusivo do petróleo (ABRAMOVAY, 2014; CRAGGS; GILBERT, 2018).

3.4.2 Matriz Energética Brasileira

Analisando o Balanço Energético Nacional (BEM, 2021) constata-se que a matriz energética brasileira pode ser considerada uma das mais “limpas” do planeta, uma vez que utiliza fontes diversas de energia e pode-se observar que este país é o que mais utiliza energia renovável a cada ano como pode ser visto na imagem abaixo (CAMPOS, 2018).

Figura 06 – Participação de energias renováveis na matriz energética

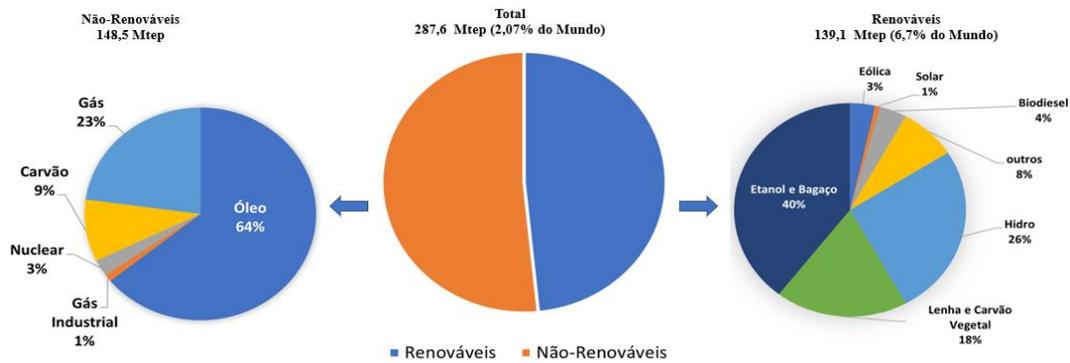


Fonte: Adaptado do Balanço Energético Nacional (BEN, 2021).

Segundo a Confederação Nacional da Indústria (CNI, 2017) a matriz brasileira de geração de energia é bastante diversificada, no entanto predominantemente hidroelétrica, possuindo crescente base eólica, solar, térmica e até mesmo nuclear. Cerca de 75% de dessa matriz é de energia renováveis (FERRAZ; CODECEIRA, 2017).

Diante da exibição desse panorama percebe-se que o modelo tradicional de dominação hídrica, dará lugar para uma matriz bastante diversificada, merecendo destaque as energias renováveis. No ano de 2020, o Ministério de Minas e Energia (BRASIL, 2020b) apresenta em um documento chamado de resenha energética brasileira a supremacia da utilização de energia renováveis no Brasil em relação a OCDE (Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico) como pode ser visto na figura 07.

Figura 07 – Oferta Interna de Energia no Brasil (OIE) – 2020 (%)



Renováveis: Mundo (14,9%), OCDE (12,1%) e Brasil (48,4%)

Fonte: Adaptado do Relatório Resenha Energética Brasileira (MME, 2021).

Conforme Figura 07, a análise do gráfico mostra as vantagens, em comparação, das energias renováveis na matriz energética brasileira e dos países da OCDE. Observa-se a participação de 48,4% das fontes renováveis na matriz energética brasileira, contra apenas 12,1%, nos países da OCDE (a maioria desenvolvidos), e de 14,9%, na média mundial (PINHEIRO, 2020).

Nessa compreensão o Brasil, como citado anteriormente, tem como principal forma de produção de energia elétrica as usinas hidrelétricas, porém desde a crise do petróleo de 1970, principalmente, no setor de transportes, o país começou a desenvolver sua matriz por meio de uma importante taxa de contribuição do etanol e mais recentemente, com o uso de biodiesel. Dessa forma a matriz energética brasileira deu um passo muito importante para potenciais expansões, o que resultará em oportunidades e investimentos a longo prazo para a entrada de outras formas de criação energética (CHERINI; VEIGA JÚNIOR, 2019; PINHEIRO, 2020).

Nessa compreensão é importante destacar que atualmente o Brasil contempla as seguintes energias renováveis: eólica, solar, hidráulica, e cada vez mais caminha para o aprimoramento de estudos nas energias provenientes de biomassa sendo de interesse desse estudo um de seus derivados, os biocombustíveis (PINHEIRO, 2020).

A geração energética a partir da biomassa é responsável atualmente por cerca de 8% da energia gerada e apresenta grande potencial prospectivo podendo atingir 9.000 MW de

capacidade com fator de capacidade de 85%, até 2050, o que representa um grande passo para autossuficiência energética (TOLMASQUIM, 2016; SILVA, 2019).

Nesse entendimento, percebe-se que a produção energética movimenta toda uma cadeia produtiva constituindo-se como um importante indicador socioeconômico de qualquer país, por tanto, sendo necessário que exista um abastecimento por meio de fontes adequadas, perenes e confiáveis. No Estado do Ceará segundo IPECE (2018) as principais matrizes energéticas do Estado são as termelétricas (55,32%) e as eólicas (47,53%). Apesar do foco ser a energia eólica, a expectativa é que haja investimentos em outras formas energéticas voltadas ao crescimento de matrizes renováveis e que para os próximos anos, a produção de fontes renováveis se expanda de forma significativa por todo o país.

Nesse entendimento cresce a expectativa que o Estado do Ceará seja um *HUB* em relação a produção do Hidrogênio Verde (HV), segundo FIEC (2020) o HV é “obtido a partir de fontes renováveis, como a energia solar sem a emissão de carbono.

3.5 ENERGIA DE BIOMASSA

Pela definição da Companhia Energética de Minas Gerais (2012), biomassa é todo recurso renovável proveniente de matéria orgânica, sendo está, de origem animal ou vegetal. Este recurso quando transformado pode ser utilizado para produção de energia, sendo esta convertida em eletricidade, combustível ou calor, ou seja, biomassa é toda matéria orgânica, seja de origem animal, vegetal ou microrganismos que é suscetível a transformar-se em energia (bioenergia). A biomassa é composta por diferentes tipos de células, cuja estrutura e composição variam com a espécie ou de partes destas espécies (VIEIRA *et al.*, 2014).

Ainda de acordo com CEMIG (2012), a biomassa engloba quaisquer sólidos originados a partir de organismos vivos, com exceção os combustíveis fósseis que surgiram a partir de biomassa no passado. Desta maneira constituindo-se uma fonte de energia de grande importância para a humanidade desde que o homem descobriu e iniciou o manuseio do fogo. Com o passar dos anos, a biomassa ganhou grande diversificação e utilidade na produção de energia.

De acordo com Cortez *et al* (2008) a biomassa também poderá ser derivada de resíduos sólidos urbanos, por exemplo: animais, vegetais, industriais e florestais. Que também está

destinado para produção de energia, desta forma enquadrando-se dentro da classificação de geração de fontes alternativas de energia.

Segundo afirma Decicino (2007), o emprego de biomassa, como combustível, pode ser utilizada a partir de sua forma mais bruta, como resíduos de floresta, agrícolas e pecuários, também podem ser utilizados excrementos de animais e lixo.

Além desse tipo de biomassa, Masiero e Lopes (2008) e Aguiar (2016) afirmam que podem ser utilizados como matérias primas para este fim, vegetais como: canola, girassol, beterraba, amendoim, dendê, além da cana-de-açúcar, eucalipto, cupuaçu, lixo orgânico, lenha, carvão vegetal, mamona, coco babaçu, casca de arroz, milho, microalgas e soja, do qual para esse estudo foi utilizado um resíduo oriundo deste óleo vegetal.

Um dos derivados da biomassa de maior destaque no Brasil tem-se os biocombustíveis, definido como uma substância derivada de biomassa renovável, tal como o biodiesel e o etanol, conforme Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP, 2018) que pode ser utilizado diretamente ou mediante alterações em motores à combustão interna ou para outro tipo de geração de energia, podendo substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil.

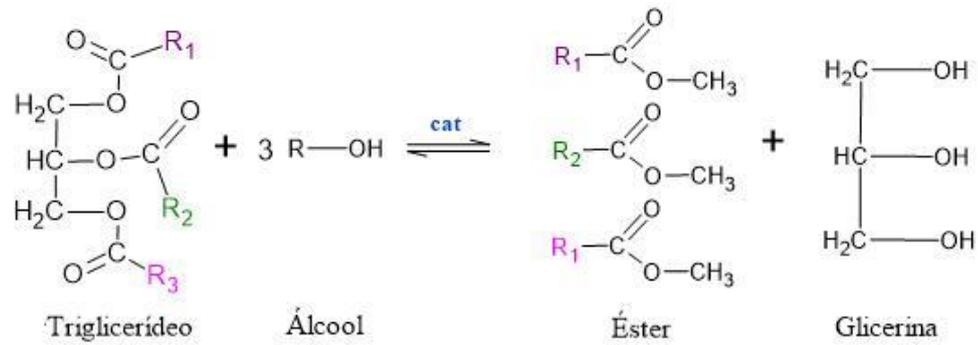
Os biocombustíveis, a cada ano, tornam-se uma alternativa aceitável a complementação aos combustíveis fósseis e gradativamente são introduzidos na matriz energética. Dentre as fontes de biocombustíveis apresentadas, o biodiesel é uma das que apresenta maior destaque no cenário energético do país (SONG *et al.*, 2016).

3.6 HISTÓRICO DO BIODIESEL NO MUNDO E NO BRASIL

Segundo Lora e Venturini (2012), o emprego dos biocombustíveis para a combustão interna de motores não é recente, por volta do ano de 1900, Rudolf Diesel, previa a possibilidade de uso de óleos vegetais, como o óleo de amendoim em seus motores.

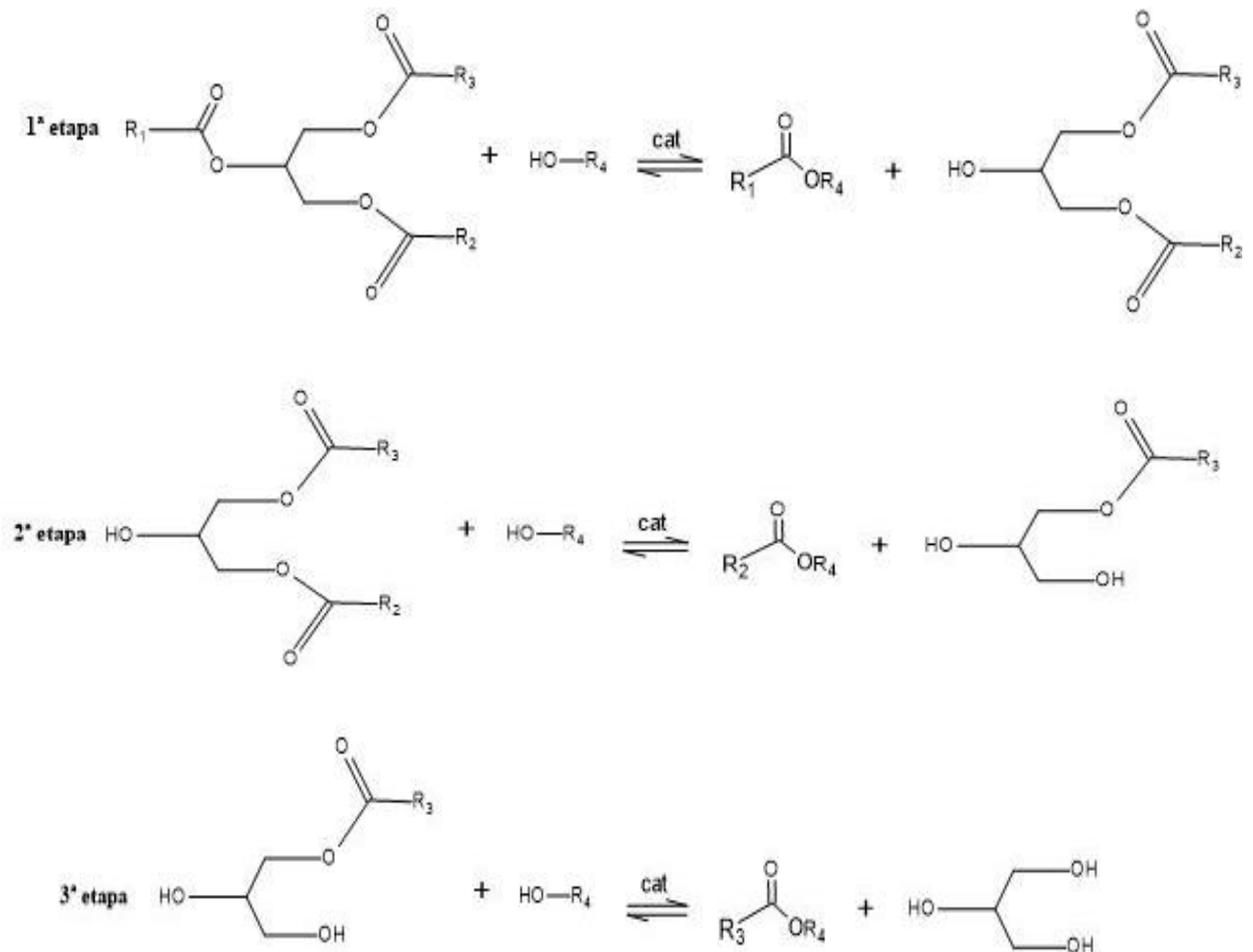
O biodiesel é um biocombustível que segundo Silva *et al.* (2016), é definido como uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos. Sendo que podem ser oriundos de óleos vegetais ou gorduras animais. Podendo ser obtidos pela reação de transesterificação utilizando-se como reagentes um álcool de cadeia curta, como por exemplo o metanol ou o etanol na presença de um catalisador químico ou biológico (ver figuras 08 e 09).

Figura 08 – Esquema de uma reação de transesterificação



Fonte: Autor, 2022

Figura 09 – Etapas da reação de transesterificação



Fonte: Autor, 2021.

3.6.1 Biodiesel no Mundo

As inquietações que assolam o mercado energético de um possível colapso devido ao esgotamento das reservas petrolíferas não são atuais e a busca por alternativas energéticas renováveis se tornam cada vez mais incessantes (BORNSCHEUER *et al.*, 2018) o que vem sendo comprovado historicamente pela crescente utilização de combustíveis alternativos.

Segundo Aguiar (2016) o uso alternativo de combustíveis vem se consolidando em várias partes do mundo:

- 1900: na Europa, houve o ensaio de Rudolf Diesel, em Paris, o uso de um motor movido a óleos vegetais.
- 1937: foi concedida a primeira patente para combustíveis obtidos a partir de óleos vegetais, em Bruxelas, Bélgica, de nº. 422877.
- 1938: houve o primeiro registro de uso de combustíveis de óleo vegetal para fins comerciais, em um ônibus de passageiros da linha Bruxelas/Loivana (p.35).

Para Gandolfi *et al* (2018) a crescente utilização dos combustíveis renováveis se deu principalmente após a primeira crise energética do petróleo em 1970.

Países como, Áustria, Alemanha, Bélgica, Estados Unidos, Finlândia, França, Holanda, Itália, Japão Reino Unido e Suécia vêm investindo significativamente na produção e viabilização comercial do biodiesel, através de unidades de produção com diferentes capacidades (SCHERER, 2011).

O uso de biodiesel cresceu acentuadamente nos últimos anos. Os custos de matérias-primas representam uma grande porcentagem dos custos diretos de produção de biodiesel, incluindo custo de capital e retorno (BOZBAS, 2008).

No entanto, o uso de biodiesel como combustível vem apresentando um potencial promissor no mundo inteiro (FARIA *et al.*, 2007), sendo um comércio que cresce de forma acelerada devido a suas contribuições ao meio ambiente, com a redução dos níveis de poluição ambiental, principalmente nos grandes centros urbanos (BORNSCHEUER *et al.*, 2018).

3.6.2 Biodiesel no Brasil

No Brasil, o órgão responsável por regulamentar todos os combustíveis é a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). Ela foi fundada no ano de 1997,

no entanto seu efetivo exercício data do ano de 2008, sendo está vinculada ao Ministério de Minas e Energias (MME).

No ano de 2003, o MME criou algumas políticas para implementação do biodiesel na matriz energética brasileira, no entanto essas primeiras políticas só foram de fato implantadas no ano de 2004, com o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) (MME, 2020).

Originalmente o PNPB, além do enfoque deste novo combustível na matriz energética, almejava a inclusão social e o desenvolvimento regional, a *priori* o principal resultado dessa primeira fase foi a definição de um arcabouço legal e regulatório.

Nessa compreensão, o uso de biodiesel como mistura ao diesel de petróleo torna-se uma realidade na matriz energética brasileira, excetuando-se o ano de 2003 em que não era obrigatório a incrementação da mistura, pode-se perceber o aumento da porcentagem até os dias atuais, conforme na tabela retirado do site da ANP.

Tabela 01 – Evolução do percentual de teor de biodiesel presente no diesel fóssil no Brasil

Mês/ano	Adição de biodiesel (%)
2003	facultativo
Jan/2008	2%
Jul/2008	3%
Jul/2009	4%
Jan/2010	5%
Ago/2014	6%
Nov/2014	7%
Mar/2017	8%
Mar/2018	10%
Mar/2019	11%
Mar/2020	12%

Fonte: Adaptado da Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

No entanto, devido aos impactos gerados pela Covid-19, a ANP e MME, como forma de garantir a segurança energética nesse período de pandemia decide reduzir o atual 12% para 10%, conforme resolução da ANP nº 821, de 17 de junho de 2020.

No Brasil só é considerado biodiesel a mistura de ésteres que obedece aos parâmetros estabelecidos na Resolução da ANP nº 7, de 19.03.2008. A tabela abaixo apresenta as exigências para ser considerada biodiesel. No caso desta tabela alguns parâmetros foram suprimidos (ANP, 2008), desta forma sendo apresentados os principais e de maior relevância para o estudo.

Tabela 02 – Especificações para o Biodiesel

Características	Unidade	Limite
Massa específica a 20°C	kg/m ³	850-900
Viscosidade cinemática a 40°C	mm ² /s	3,0-6,0
Ponto de fulgor, mín.	° C	100
Índice de acidez, máx.	mgKOH/g	0,5
Índice de Iodo	gI ₂ /100g	Anotar
Estabilidade à oxidação	H	12
Teor de éster, mín.	% massa	95%

Fonte: Adaptado da Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2019.

Conforme Santana *et al.* (2016) o biodiesel (BD) apresenta algumas características positivas, dentre elas a integração entre o social, o econômico e o ambiental. Sendo de grande eficiência energética, pois seus índices de cetano compara-se ao do diesel de petróleo. Outra característica incomum reside no fato de sua degradabilidade está em torno de 90% e neste caso sua decomposição ocorre em torno de 21 dias se comparado a queima de petróleo, o qual emite muitos compostos tóxicos, o que torna o uso do BD mais benéfico ao meio ambiente.

Em relação à economia, a sua inserção na matriz energética brasileira, acarretou um aumento no desenvolvimento da geração de emprego e renda, devido a agregação de valor nas

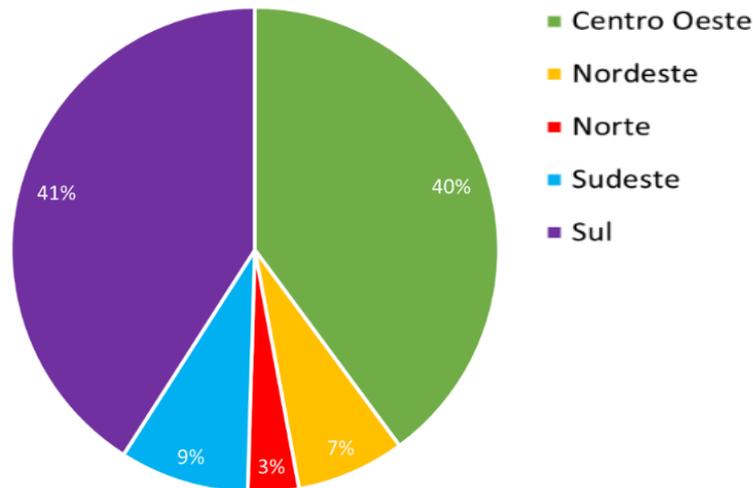
matérias-primas, também se observou como consequência direta a redução das importações de óleo cru e diesel refinado (LIMA *et al.*, 2015).

Em relação ao meio ambiente e a sustentabilidade, sua introdução fez com que reduzissem as emissões de poluentes tóxicos para a atmosfera, assim como apresentou menos danos as águas, lençóis freáticos, flora e fauna e aos solos, principalmente quando esse biodiesel é produzido a partir de óleos residuais, como o óleo de fritura (DE OLIVEIRA *et al.*, 2020).

Como citado anteriormente o Brasil deslança como um dos grandes produtores de energias renováveis e por possuir extensos territórios para o plantio de oleaginosas e clima favorável essa produção de Biodiesel tem destaque em várias regiões do país.

Em se tratando de produção, as regiões campeãs de produção de biodiesel são as regiões Centro-Oeste e Sul, conforme os dados da ANP abaixo até o mês de junho de 2020, somente estas duas regiões consumiram 80,8% de todo o biodiesel no corrente ano.

Figura 10 – Percentual de produção de Biodiesel em cada região do Brasil

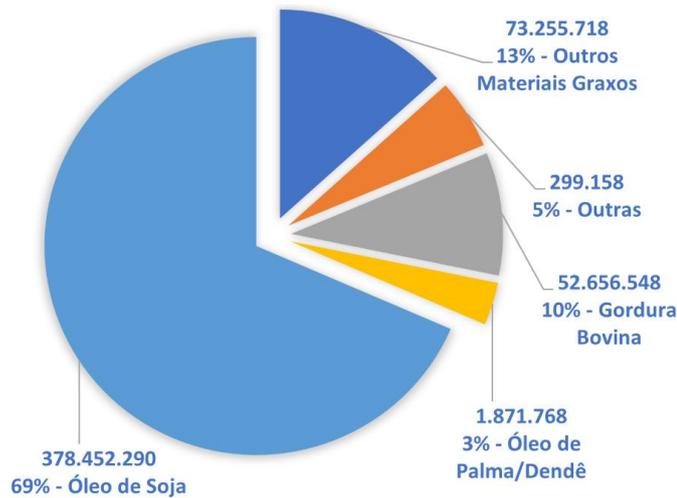


Fonte: Adaptado da Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

Infelizmente, as regiões norte e nordeste apresentam baixa produção de BD, por exemplo no estado do Ceará, a única usina autorizada a funcionar era a Petrobras Biocombustíveis, que teve suas atividades hibernadas em novembro de 2016, que está localizada na cidade de Quixadá (PETROBRAS, 2016).

De acordo com Santana *et al.* (2016) e o painel dinâmico da ANP (2020) a matéria prima principal para produção do biodiesel é a soja, sendo o principal embate com relação a ela a competição entre a produção de biocombustível e seu uso na alimentação.

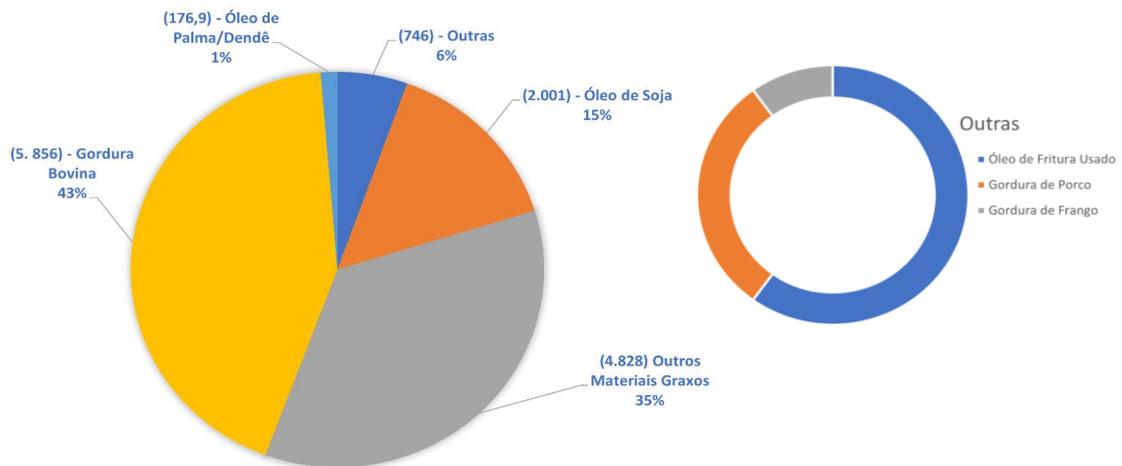
Figura 11 – Participação de matérias primas na produção do Biodiesel



Fonte: Adaptado de Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

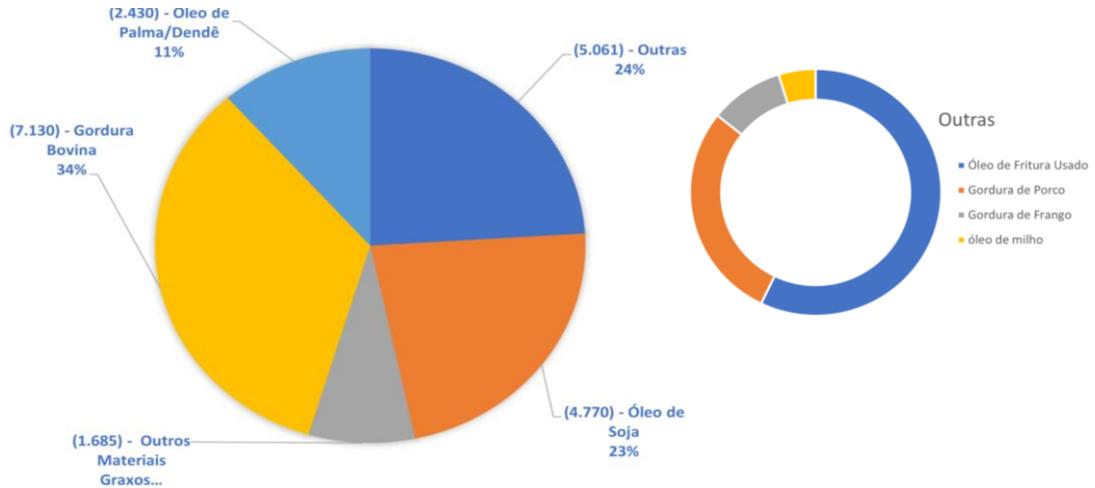
Nesse cenário, o óleo de frituras ganha grandes destaques para produção de biodiesel, nos gráficos a seguir ele encontra-se dentro da fatia de outras matérias primas, apresentando expressiva usabilidade para produção dos combustíveis dentre as outras matérias. Segundo os dados extraídos do site na ANP (2020) os estados brasileiros que mais utilizam esse tipo de matéria prima para produção de biodiesel são: Minas Gerais, São Paulo e Goiás.

Figura 12 – Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de Minas Gerais



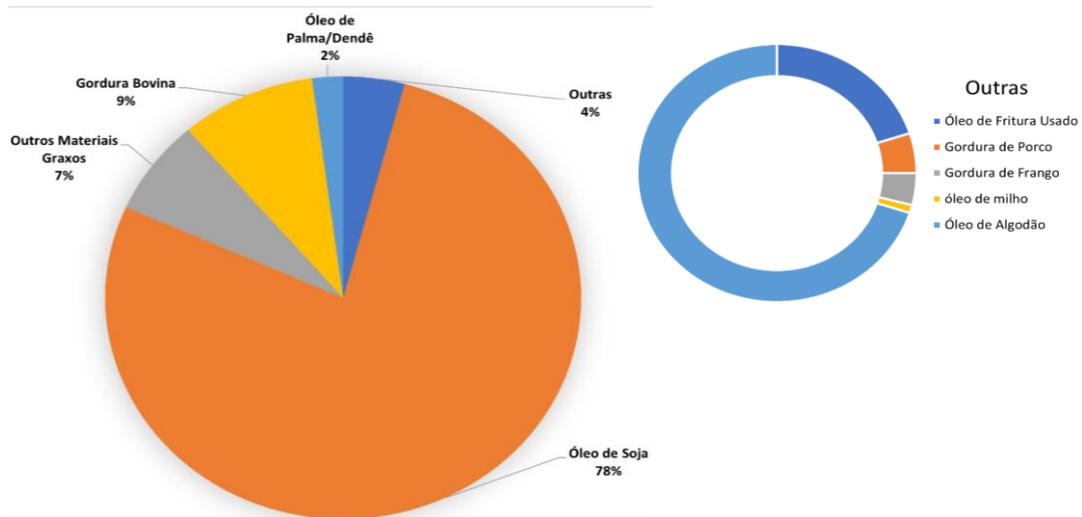
Fonte: Adaptado de Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

Figura 13 – Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de São Paulo



Fonte: Adaptado de Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

Figura 14 – Participação de óleo de frituras na produção do Biodiesel no Estado de Goiás



Fonte: Agência Nacional do Petróleo, Gás natural e Biocombustíveis – ANP, 2020.

Estes dados apresentados mostram que a utilização de óleo de frituras está sendo uma proposta crescente e viável para a produção de biodiesel, corroborando assim com as ideias de Pandey *et al* (2019), afirmando que as estatísticas do consumo global de óleo vegetal mostraram que 12,2% do óleo vegetal foi consumido como matéria-prima do biodiesel durante o período de 2012 - 2014. Prevê-se que esse número aumente para 13,4% em 2024.

4 METODOLOGIA

A metodologia utilizada neste estudo consistiu, primeiramente, em uma revisão do aprofundamento teórico da literatura pertinente ao tema. Essas leituras fazem referência à produção de biodiesel através da reação de esterificação e transesterificação via catálises enzimáticas. Também foi realizado um levantamento sobre o contexto histórico e econômico do biodiesel, enzimas e sobre os processos de imobilização enzimática.

Os procedimentos experimentais foram realizados no Laboratório de Biomassa, localizado no *Campus* das Auroras da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB). Para a síntese de nanopartículas magnéticas foi utilizado o Laboratório da Universidade Federal do Ceará (UFC).

4.1 Materiais e métodos

4.1.1 Obtenção da matéria prima

O óleo residual utilizado neste estudo foi gentilmente doado por microempreendedores do ramo alimentício do município de Maracanaú no Estado do Ceará. Estes óleos são derivados do óleo de soja advindos das frituras de batata frita.

4.1.2 Enzimas utilizadas

A enzima utilizada no processo para o desenvolvimento deste trabalho foi a lipase B de *Candida antarctica* (CALB) de forma livre e imobilizadas em nanopartículas magnéticas de ferro (NPM) – (CALB-NPM) e as comercialmente imobilizadas em resina acrílica (Novozyme® 435) adquirida pela Sigma-Aldrich (Cotia, São Paulo, Brasil).

Em seu trabalho, Souza (2013) descreve que as NPM foram imobilizadas após realização do tratamento das mesmas por aminopropiltriétoxisilano (APTS) e glutaraldeído 25%. Sendo o processo realizado utilizando-se 0,01 g de nanopartículas com 0,5 mL de solução tampão de fosfato de sódio, 100 mM, pH 7,0 agitando-se constantemente e de forma controlada o sistema: 45 rpm (agitação rotacional). O contato enzima-suporte foi estudado trabalhado dentro do espaço de tempo de 1,0 h. Ao final do processo a solução de enzima imobilizada foi removida por magnetismo, essa mesma metodologia será utilizada neste trabalho.

Segundo a metodologia empregada por Souza (2013), o tratamento do suporte iniciou-se com a adição de solução de APTS (2,0% v/v) ao suporte de NPM na proporção de 0,2 (mL/mg de suporte). Após o tratamento, as nanopartículas foram lavadas com 100 mL de metanol e 100mL de etanol, separadas por magnetismo, e secadas a 30°C por 24 horas (NETTO; ANDRADE; TOMA, 2009).

A outra enzima utilizada trata-se da Eversa Transform 2.0, também utilizada de forma livre e imobilizada em nanopartículas magnéticas.

4.1.3 Pré-tratamento do óleo residual de frituras (ORF)

O óleo empregado neste trabalho, visivelmente, ver imagem abaixo (Fig. 15), não apresenta grandes impurezas como os demais óleos residuais (frituras de carnes, salgados e outros), pois era destinado somente a fritura de batata. Em média o óleo era utilizado com uma frequência de quatro vezes por semana para a fritura, apesar de pouca utilização já é possível identificar leve modificação na sua coloração, devido as diversas elevações na temperatura.

Figura 15 – Óleo em repouso (a esquerda) e óleo particulado (agitado)



Fonte: Autor, 2022.

Assim como no trabalho de Nogueira (2018) foram realizadas as seguintes etapas de tratamento e purificação do óleo residual neste trabalho: Filtragem, Degomagem e Índice de Acidez e sua hidrólise.

Neste trabalho foram utilizados 500 mL de óleo residual de fritura, para a pesagem utilizou-se uma balança para a medida de 250g de ORF para uma medida de 5% de água

destilada. O procedimento seguinte foi a realização do aquecimento do ORF e da água destilada para que atingissem a temperatura de 40 °C. Após o aquecimento realizou-se a mistura do ORF com água destilada e continuou-se o aquecimento até que atingissem a temperatura de 65°C. Esse aquecimento foi realizado em uma chapa de aquecimento e magnetizada para que a solução ficasse sobre agitação constante por um tempo de 30min.

Após esses procedimentos citados anteriormente transferiu-se a mistura para um funil de decantação para que houvesse a separação de fases. Como pode ser visto nas imagens abaixo.

Figura 16 – Etapas do processo de degomagem: (a) Aquecimento do óleo residual; (b) Decantação após 30 minutos



(a)



(b)

Fonte: Autor, 2021.

4.1.4 Índice de Acidez (IA) e Hidrólise de ORF

A amostra do ORF passou primeiramente pela filtragem simples para retirada das impurezas mais brutas e posteriormente foi realizada um processo de degomagem e posteriormente hidrólise. Uma amostra de óleo residual foi realizada em triplicata de 25 mL para cálculo de IA. Os dados obtidos foram resultados do cálculo a partir da fórmula da equação abaixo:

$$IA \left(\frac{mgNaOH}{g} \right) = \frac{VxfxCx40}{m}$$

Onde:

V = volume gasto de NaOH (mL) debitando o valor gasto na titulação do branco;

f = fator de correção da solução de NaOH;

C = concentração da solução de NaOH;

40 = massa molar do NaOH e

m = massa da amostra (g)

Para a reação de hidrólise do óleo pesou-se 300g do óleo vegetal que foi posteriormente aquecida a 90°C e sob agitação de 500 rpm. Dando continuidade no procedimento de hidrólise foram gotejados uma solução de hidróxido de sódio a 20% (m/v) até que o pH da amostra atingisse o valor de 14,0 (nesse momento houve formação de suspensão sólidas no óleo). Após atingir pH 14,0, e mantendo a agitação e o aquecimento, foi adicionando-se uma solução de H₂SO₄ a 6 mol.L⁻¹ até que a mistura atingisse o pH 2,0, a partir desse momento a suspensão sólida foi se desfazendo e a mistura líquida voltou a aparecer.

Após esses procedimentos, a mistura foi transferida para um funil de decantação para que houvesse a separação de fases. Após a separação, a fase inferior foi descartada, ainda usando o funil de decantação. Deu-se sequência no procedimento da lavagem do sobrenadante até a água de lavagem atingisse o pH 7,0. Quando atingido o pH após as sucessivas lavagens, houve o recolhimento do óleo hidrolisado (ácidos graxos livres – AGL) do funil de decantação. Após isso ainda houve o aquecimento (100 °C) do óleo hidrolisado para sua total secagem.

4.1.5 Teor de umidade

A determinação do teor de umidade seguiu os procedimentos da metodologia do Instituto Adolfo Lutz (IAL) onde parte do princípio da perda de peso sofrido pelo óleo quando submetido ao aquecimento direto da amostra em estufa da marca SOLIDSTEEL, modelo SSA – 21 L (Figura 18) objetivando a remoção da água contida no óleo, além de outros componentes voláteis.

Figura 17 – Estufa de esterilização e secagem

Fonte: Autor, 2021.

Para calcular o teor de umidade utilizou-se a fórmula:

$$\text{Teor de Umidade a } 105^{\circ}\text{C}\% = \frac{(A-B) \times 100}{PA}$$

Onde:

A = Peso do bécher mais amostra úmida (antes de ir à estufa);

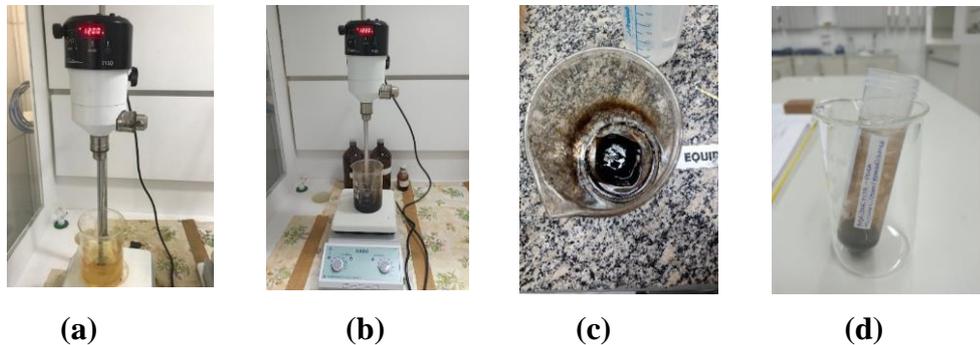
B = Peso do bécher mais amostra seca (após a saída da estufa);

PA = Peso da amostra (peso do bécher mais amostra úmida menos peso da bécher).

4.1.6 Síntese de nanopartículas de magnetita (Fe_3O_4)

A síntese das nanopartículas magnéticas foi realizada de acordo com Farias (2017) com adaptações. Sais metálicos contendo Fe^{2+} e Fe^{3+} ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ e $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) foram dissolvidos em água mili-Q na razão molar de 1:2, respectivamente. A solução foi ajustada para pH 3 usando HCl a 5% (v/v) e aquecida a 80°C sob agitação de 1.200 rpm durante 30 min. Em seguida, foi adicionado 30 mL de hidróxido de amônio (NH_4OH) por gotejamento ainda em aquecimento e agitação por 30 min, sendo formado um precipitado preto. O precipitado foi lavado várias vezes com água mili-Q até a solução residual atingir a neutralidade, e foi realizada uma única lavagem com metanol. Finalmente, as nanopartículas magnéticas foram secas e armazenadas em dessecador. O suporte foi denominado NPM.

Figura 18 – Sequência de síntese de nanopartículas magnéticas: (a) início da produção de nanopartículas; (b) finalização da nanopartícula; (c) lavagem e separação para secagem da nanopartícula magnética; (d) nanopartícula magnética produzida e seca



Fonte: Autor, 2021.

4.1.7 Tratamento do suporte com g-aminopropiltriétoxissilano (APTS)

A reação foi iniciada com a adição das nanopartículas magnéticas em 300 mL de etanol (95%). A seguir, o material foi levado a ultrassom durante 1h. Após esse período, adicionou-se 10mL de APTS e deixado em ultrassom por mais 1h. O material precipitado foi lavado com etanol e com o auxílio de um ímã foi recuperado, em seguida, levado para dessecador (SOUZA, 2013).

4.1.8 Reticulação com solução de glutaraldeído (GA)

As nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) foram suspensas em 25% (p/v) de glutaraldeído (GA), conforme metodologia descrita por de Souza *et al.* (2017). Inicialmente, 25 μL de glutaraldeído foram colocados em contato direto com 10mg de partículas de magnetita. A reação foi mantida sob agitação por 2h a 25°C. Em seguida, os suportes foram lavados três vezes com tampão fosfato de sódio 5mmol L^{-1} (pH 7,0) para remover o excesso de glutaraldeído. O suporte foi denominado NPM-GA.

4.1.9 Imobilização

O suporte de nanopartículas magnéticas (tratada por APTS e reticulada com solução de glutaraldeído) foi avaliado em relação à sua capacidade de imobilização. O processo foi realizado pelo contato de 0,01g de nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) com 0,5mL de solução tampão de fosfato de sódio, 5mmol L^{-1} , pH 7,0, 25°C e sob agitação contínua por 1h (45 rpm). A enzima imobilizada foi removida da solução por separação magnética. O desempenho da

enzima imobilizada foi avaliado e os rendimentos, eficiências e atividades de recuperação calculados de acordo com Sheldon e van Pelt (2013).

Em resumo, o rendimento de imobilização foi determinado pela razão entre a atividade imobilizada (relacionada com a atividade das enzimas retidas no suporte) e a atividade inicial. A atividade imobilizada foi determinada medindo a atividade enzimática residual total que permaneceu na solução enzimática após a imobilização e subtraindo-a da atividade inicial total. A atividade teórica (A_{T}) foi calculada usando o rendimento de imobilização (IY) e a carga enzimática. A atividade recuperada (A_{R}) foi calculada pela razão entre a atividade do biocatalisador (A_{B}) e a atividade teórica (A_{T}). A eficiência de imobilização foi determinada pela razão entre a atividade do biocatalisador (A_{B}) e a atividade imobilizada.

4.2 Determinação de atividade enzimática

A atividade da enzima (80UpNPB/g suporte) foi determinada espectrofotometricamente usando 50 mmol L^{-1} de butirato de *p*-nitrofenil (*p*-NPB) em acetonitrila. A mistura de reação foi preparada misturando $50 \mu\text{L}$ de *p*-NPB em $2,5\text{mL}$ de tampão fosfato de sódio 25mmol L^{-1} a pH 7,0 e $50\mu\text{L}$ da amostra ou 10 mg de biocatalisador a $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O produto liberado durante a hidrólise de *p*-NPB, *p*-nitrofenol, foi quantificado por espectrometria usando um espectrofotômetro em um comprimento de onda de 348nm ($\epsilon = 10,052\text{mol.L}^{-1}.\text{cm}^{-1}$). Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que hidrolisa $1\mu\text{mol}$ de substrato (*p*-NPB) por minuto, de acordo com às condições citadas acima (Souza *et al.*, 2017). A concentração de proteína foi determinada pelo método de Bradford e albumina sérica bovina foi usado como padrão.

4.2.1 Esterificação enzimática

A eficiência dos biocatalisadores obtidos foi avaliada por meio de reações de esterificação. As reações foram feitas usando óleo residual de fritura (ORF) como substrato diluído em álcool etílico ou metílico (proporção de $1:1 \text{ mol L}^{-1}$, óleo/álcool) e sem solvente, a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm por 8h utilizando $0,01\text{g}$ do biocatalisador preparado com uma carga de 80 UpNPB/g suporte.

As reações foram realizadas em triplicata. O biocatalisador foi separado do meio reacional por magnetização e lavado com hexano para remoção de substratos não reagidos e/ou

moléculas de produto retidas no microambiente do biocatalisador conforme Souza *et al* (2017) com adaptações. Em seguida, o biocatalisador foi introduzido em uma nova mistura de reação.

4.2.2 Produção de biodiesel por catálise enzimática

A biocatálise foi iniciada através da junção entre o ORF + enzimas, dessa forma, os experimentos de esterificação foram executados em micro tubos plásticos (2,0mL) contendo 0,56g de óleo residual de fritura (ORF) e 0,0933μL de etanol (razão molar 1:1). Da mesma forma foram pesados 0,56g de ORF com a adição de 0,0656μL de metanol bem como 0,01 g de biocatalisador CALB-NPM / EVERSAS-NPM. A reação foi conduzida em agitação orbital (150 rpm), a 37°C, nos estudos de 2h, 4h, 6h e 8h. O índice de acidez foi analisado pelo método do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005; MARINS; SANTOS, 2017).

Com esses procedimentos de tratamento da matéria prima, pretende-se realizar a produção de biodiesel através da catálise enzimática utilizando álcool metílico (metanol) e etílico (etanol), utilizando para isso a enzima Lipase B de *Candida antarctica* (CALB) imobilizadas em nanopartículas ferromagnéticas em conjunto o catalisador comercial Novozym® 435, com propósito de comparação, essa técnica foi utilizada nos trabalhos de Souza *et al* (2017).

Da mesma forma, posteriormente a esses procedimentos, realizou-se a produção de biodiesel através da catálise enzimática utilizando álcool metílico (metanol) e etílico (etanol), porém utilizando para isso a enzima Eversa® Transform 2.0 de forma livre e imobilizadas em nanopartículas ferromagnéticas em conjunto o catalisador comercial Novozym® 435.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

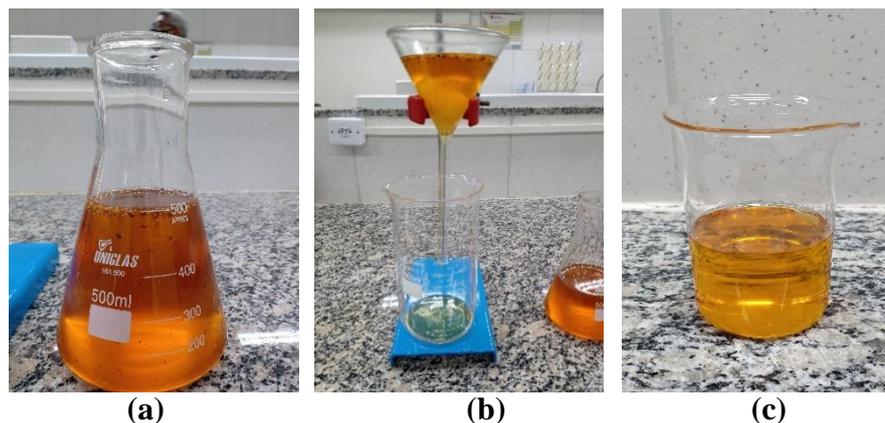
5.1 Caracterização do óleo residual de frituras (ORF)

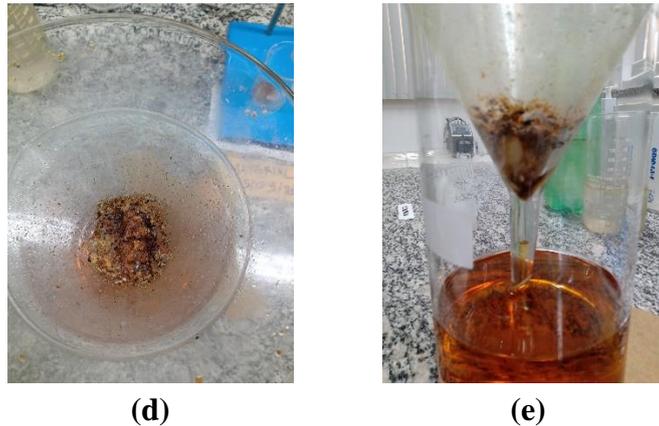
Os trabalhos de Dib (2010) e Guimarães (2014), constataam que para os estudos referentes ao uso do óleo de fritura para a produção de biodiesel deve-se seguir uma série de tratamentos, que vai desde métodos simples como filtração até métodos mais elaborados como a clarificação (PATRÍCIO; HOTZA; JÚNIOR, 2014).

A filtragem (Fig. 19) retirou as impurezas mais brutas, como resto de alimentos ou outras partículas de grandes dimensões. Inicialmente essa filtragem foi realizada com a utilização de um chumaço de algodão.

Devido ao processo de fritura possivelmente a matéria prima tenha sofrido perdas de características físico-químicas por conta das altas temperaturas empregadas durante o processo de fritura, dessa forma necessitando de um método de tratamento mais eficaz como a degomagem.

Figura 19 – Processo de filtração do Óleo Residual de Fritura: (a) Óleo Residual de fritura coletado; (b) filtração do óleo; (c) Óleo filtrado; (d) resíduos da filtração-vista de cima; (e) resíduo da filtração-vista frontal





Fonte: Autor, 2021.

A degomagem é uma técnica que consiste na retirada de impurezas como os ácidos graxos e fosfolipídios, mesmo o óleo *in natura* apresenta esses constituintes. Esses tipos de impurezas devem ser retirados, pois podem influenciar na estabilidade do óleo. Esse processo hidrata os fosfatídeos hidratáveis tornando-os insolúveis em matérias graxas, permitindo facilmente sua separação e conseqüentemente redução de tais impurezas (NOGUEIRA, 2018 *apud* MORAIS, *et al.*, 2012). Essa degomagem é necessária para que as reações de formação de ésteres não venham formar outros subprodutos indesejáveis durante o processo.

Outra técnica utilizada neste trabalho foi o índice de acidez (IA). Tal procedimento é essencial para quem utiliza esse tipo de óleo para produzir biocombustíveis, pois permite determinar logo de imediato o estado de conservação física do óleo residual, determinando o total de ácidos graxos livres (AGL) presente na matéria prima para produção de biodiesel. Esta parte do pré-tratamento é realizado através da decomposição do óleo residual, alterando íons de hidrogênio. A decomposição dos glicerídeos é precipitada através de aquecimento, liberando sua rancidez em seguida acompanhada de ácidos graxos livres (IAL, 2005; MARINS; SANTOS, 2017).

Esse procedimento é muito importante, pois consegue mensurar se o produto analisado apresenta ou não um grau de deterioração, uma vez que se apresentarem uma quantidade muito expressiva de ácidos graxos livres (AGL), poderá comprometer a eficácia e eficiência da produção do biodiesel. Os elevados teores de índice de acidez indicam que o óleo está sofrendo quebras em suas cadeias principais, liberando esses ácidos graxos. O índice de acidez pode ser definido como o número de miligramas (mg) de hidróxido de potássio necessário para neutralizar um grama (g) da amostra (SANTIN; OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2015).

Segundo os estudos de Nogueira (2018) o IA pode ser medido utilizando-se a metodologia apresentada pelo IAL – Instituto Adolfo Lutz – (2005). Nessa metodologia utiliza-se 2 g da amostra em um erlenmeyer de 125mL, em seguida adicionados 25mL da solução éter-álcool (2:1) neutra, e logo após, duas gotas do indicador fenolftaleína. O processo de titulação ocorre na presença de uma solução aquosa de hidróxido de potássio (NaOH) a 0,01 M, de fator de correção $f = 0,95$. A análise deverá ser realizada em triplicata. Neste trabalho o IA foi determinado realizando o seguinte procedimento descrito no tópico a seguir.

Os cálculos realizados para o IA, foram feitos em triplicata e apresentaram os seguintes resultados, conforme a tabela a seguir:

Tabela 03 – Índice de Acidez de OFR in natura

P (g)	V (mL)	IA (mg NaOH/g)
0,2019	5,0	0,861813
0,2014	4,9	0,846673
0,2015	4,9	0,846253
Média =		0,8515797

Fonte: Autor, 2021.

De acordo com ANP (2014), resolução nº45 de 25/08/2014, óleos utilizados como matéria-prima para produção de biodiesel devem apontar valores iguais ou inferiores a 0,50mg NaOH/g em sua composição. O valor apresentado na Tabela 03, está fora dos padrões, porém apresenta um valor esperado para óleos residuais, que são mais ácidos devido à formação de ácidos graxos livres (AGL) (RAMOS, *et al.*, 2017). Após continuidade dos experimentos espera-se que este índice venha diminuir.

O teor de umidade é importante, pois a água presente pode influenciar nas ligações entre as enzimas e os lipídeos e dificultar a formação dos ésteres. Na determinação do teor de umidade os resultados obtidos estão na tabela abaixo:

Tabela 04 – Resultados de Teor de umidade

Óleo	Peso bécher vazio (g)	Peso da amostra úmida (g)	Peso da amostra + bécher (após aquecimento em gramas)	Peso da amostra seca (g)	Teor de umidade (%)
Residual de Fritura	141,699	50,546	192,204	50,505	0,081

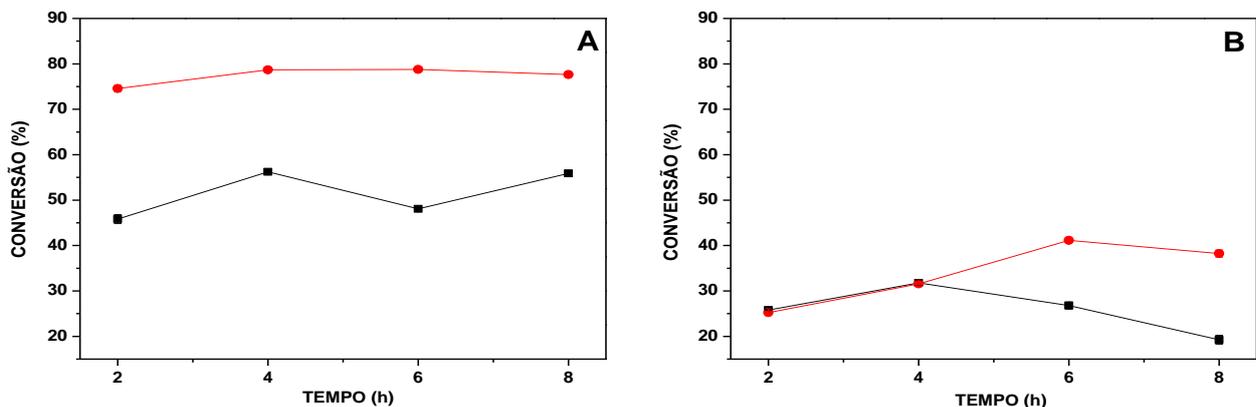
Fonte: Autor, 2021.

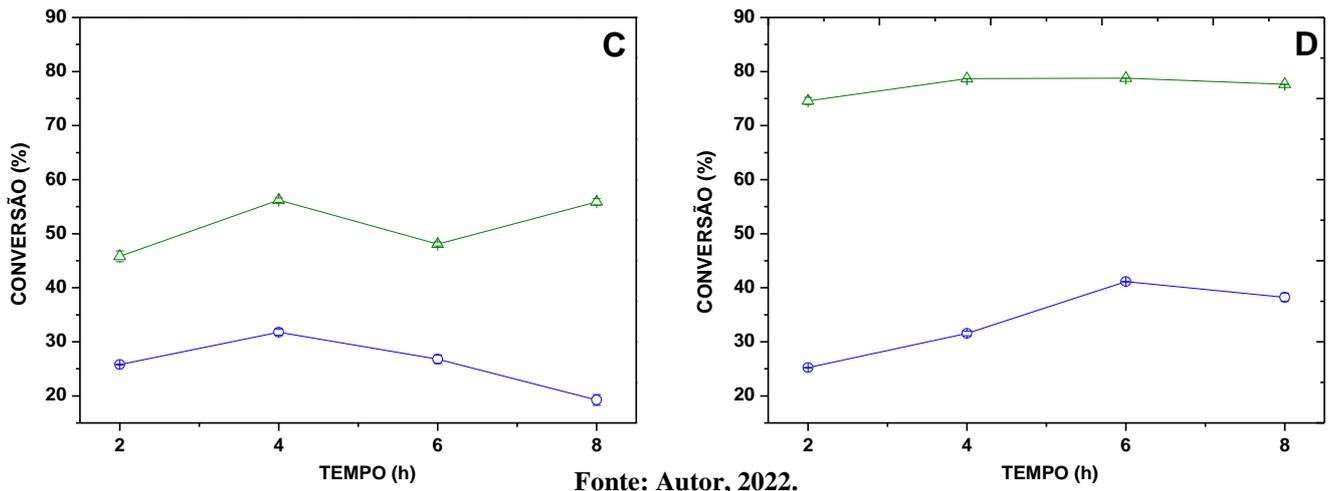
De acordo com a Resolução 042 de 24/11/2004, da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o óleo vegetal ideal para o processamento de biodiesel deve ser isento de água. No contexto industrial é aceitável até 0,05% de água na matéria-prima oleaginosa. A presença desta substância em quantidades elevadas favorece a saponificação, consome o catalisador, favorece a formação de ácidos graxos e diminui a capacidade de transesterificação alcalina (DO NASCIMENTO, *et al.*, 2020). Os valores apresentados na tabela 04 não apresenta os valores aceitáveis uma vez que se referem ao ORF de forma bruta.

5.2 Análise das reações de esterificação

Foram realizados estudos nos tempos de 2h, 4h, 6h e 8h de reação com o óleo residual de fritura com 80 U/g de enzima e dois tipos de álcool, a saber o etanol e o metanol. Os melhores resultados estão disponibilizados nos gráficos abaixo.

Figura 20 - Síntese de ésteres utilizando óleo de fritura e os álcoois etílico (1:1) e metílico (1:1) como sistemas alcoólicos e as enzimas EVERSA e CALB como catalisadores: (A) Enzima EVERSA com (■) etanol e (●) metanol; (B) Enzima CALB com (■) etanol e (●) metanol; (C) Enzimas (Δ) EVERSA e (○) CALB com etanol e (D) Enzimas (Δ) EVERSA e (○) CALB com metanol.





Os fatores de preparação pra o estudo desse processo como os parâmetros de reação de esterificação, a razão molar de metanol e etanol para óleo, dosagem de catalisador, temperatura de reação e tempo foram usados pelos trabalhos de Souza (2013) de acordo com seus estudos para obter o melhor rendimento de biodiesel.

Os biocatalisadores EVERSA (Eversa® Transform 2.0) e CALB (Lipase B de *Candida antarctica*) foram avaliados para a síntese de ésteres utilizando óleo de fritura e os álcoois etílico (1:1) e metanol (1:1) como sistemas alcoólicos selecionados como modelos para este estudo. No processo de síntese utilizando a EVERSA, Figura 20 (A), as conversões de álcool alcançadas durante os tempos de 2, 4, 6 e 8 h de reação foram em média, aproximadamente, 77% usando metanol, mostrando que o estudo em todo esse processo foi favorável. Já a conversão com a EVERSA utilizando o álcool etílico apresentou menor eficiência em relação a este último, em torno de 45% e 55%.

Vela *et al.* (2020) estudaram a produção de biodiesel a partir de óleo residual de fritura de restaurantes utilizando enzima lipase como catalisador. O processo foi feito variando os tempos de reação (8 h, 12 h e 16 h) com uma razão molar álcool-óleo fixa de 3:1. As condições ótimas de operação para quantificar a quantidade de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) gerados foi alcançada com uma concentração de enzima de 14%, tempo de reação de 8h, pH de 7 e temperatura de 38°C. A conversão de ácidos graxos em ésteres metílicos foi de 87,11% de biodiesel.

No trabalho de Shimada (1999), o índice conversão foi ainda maior, porém o tempo de realização também foi maior. Em seu trabalho durante 48h em um processo em três etapas converteu 98,4% do óleo em seus ésteres metílicos correspondentes a conversão.

Se compararmos com o presente estudo, Figura 20 (A), devido ao processo de fritura do óleo que utilizamos no trabalho e seus reciclos, além da presença de impurezas apresentar um desafio para alcançar altos rendimentos de conversão, nosso resultado foi bastante satisfatório, pois em apenas 4 h, conseguimos uma conversão de 78% em oleato de metila.

O estudo feito pela enzima Lipase de *Candida antarctica* tipo B (CALB), Figura 20 (B), também demonstraram uma maior produção de biodiesel pela rota metílica em relação à etílica.

No trabalho de Silva (2017) no qual realizou 17 ensaios com variação de temperatura entre 27°C e 47°C, seu melhor resultado apresentou 37,14% de conversão nas condições operacionais empregadas na reação com maior conversão foi razão molar óleo/etanol de 1/1, massa de catalisador 0,06 g e temperatura de 27 °C, ele também verificou que as maiores conversões para a produção de ésteres etílicos são obtidas utilizando maiores massas do biocatalisador (CALB-NPM).

Royon *et al.* (2007) utilizando lipase imobilizada de *Candida antarctica* após 24h de reação (50 °C), obteve-se 97% do éster formado. Assim como no trabalho de Hernández-Martín e Otero (2008), usando a CALB, após 48h de reação, a lipase converteu 84% dos óleos em ésteres etílicos.

Diversos trabalhos realizados por Oliveira *et al.*, (2019), mostram que, independentemente do catalisador ou das condições em que se realize a transesterificação, o metanol será na maioria das vezes mostra-se mais eficiente que o etanol, seja em velocidade quanto no rendimento final da reação. Ainda segundo Oliveira *et al.*, (2019), pode-se otimizar a transesterificação etílica e se obter altos rendimentos, mas será necessária uma maior quantidade de álcool, e uma temperatura mais elevada e maior tempo. Estas condições mais drásticas acarretarão um maior custo de produção. Por outro lado, sabe-se também que o etanol favorece a formação de emulsões no final da reação, sendo necessário destilar o álcool para conseguir uma boa separação da glicerina, o que dificulta e encarece a purificação do biodiesel.

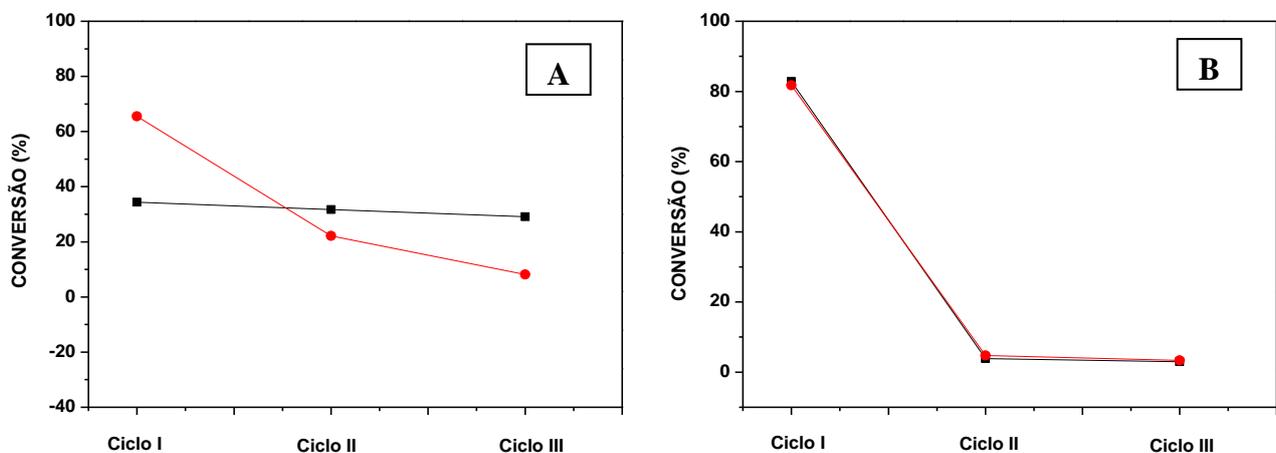
As análises dos resultados também mostram que a *Eversa® Transform 2.0* (ET2.0), apresenta como maiores conversões, pois foi pensada e modificada geneticamente para esse fim específico. Molina-Gutierrez *et al.* (2021) afirmam em seus estudos que esta enzima foi desenvolvida pela *Novozymes* para a síntese de biodiesel e que a mesma apresentou excelente comportamento nestas condições de reação, tanto na forma solúvel quanto imobilizada,

convertendo todo o substrato em FAMES. Sendo que a enzima livre produz cerca de 60% de FAMES após 9 h de reação, enquanto a forma imobilizada sintetiza cerca de 80% de biodiesel no mesmo período.

Chang *et al.* (2020) também chegaram as conclusões de que ET2.0 apresenta uma taxa de conversão de 97%, seus resultados experimentais mostraram que a enzima foi eficiente em catalisar a reação com alto teor de AGL. A presença de FFA na matéria-prima foi encontrada para aumentar a taxa de reação e melhorar o FAME.

Dessa forma pode se dizer que, no geral, ET2.0 é um extrato enzimático, e está na forma líquida é eficiente e de baixo custo que pode ser usada para produzir biodiesel de forma sustentável e econômica a partir de matérias-primas de baixa qualidade contendo alto valor AGL.

Figura 21 – Rendimento do biodiesel e reutilização da lipase imobilizada: (A) Enzima EVERSA com (■) etanol e (●) metanol; (B) Enzima CALB com (■) etanol e (●) metanol; Reação condições: razão molar óleo/álcool (1:1); dosagem de catalisador, $A_{T_r} = 80 \text{ U.g}^{-1}$; tempo de reação: ciclos de 8 h cada, totalizando 24 h no final; temperatura de reação, 37°C.



Fonte: Autor, 2022.

Com relação aos ciclos, foi possível observar que a atividade da enzima imobilizada não se manteve. Acredita-se que essa queda pode ser devido ao pouco tempo empregado (ciclos de 8h) no experimento, no ciclo I, tanto na ET2.0 quando na CALB os resultados se mostraram bem promissor acima de 60% e acima de 80%, respectivamente. Nos ciclos II e III os resultados não foram tão promissores. Godoy (2019) acrescenta que o reuso pode também acarretar a perda de atividade devido à dessorção, à inibição ao substrato e, muitas vezes, ao produto.

Os resultados deste trabalho são inferiores ao encontrado na literatura considerando vários ciclos de reuso. Razack e Duraiarasan (2016) *apud* Godoy (2019) estudaram a reutilização de lipase imobilizada de culturas mistas em esferas de alginato de cálcio 2 % e, após 20 ciclos. Remonatto *et al.*, (2018) observaram que após 3 ciclos de reuso o rendimento caiu apenas 25 % na produção de ésteres etílicos.

Segundo Razack e Duraiarasan (2016) *apud* Godoy (2019), o biocatalisador sofre inativação na presença do metanol após o quarto ou quinto ciclo de reuso da lipase, sendo caracterizada como uma das principais limitações na produção do biodiesel por catálise enzimática.

Neste entendimento, este estudo demonstra que algumas condições reacionais, como por exemplo o tempo de reciclos, outras temperaturas, devem ser otimizadas para emprego eficiente da enzima com reuso no processo de produção de biodiesel.

6 CONCLUSÃO

O uso de bioenergias já é uma realidade na matriz energética mundial e brasileira. Sua utilização configura-se de grande importância, pois representa um dispositivo que além de oferecer energias alternativas para compor a matriz energética, reduzem a emissão de gases prejudiciais ao meio ambiente. O investimento em tecnologias, o incentivo de órgãos juntamente com redução de custos de produção leva os pesquisadores a desenvolverem bioenergias a partir de diversos tipos de biomassa.

De acordo a bibliografia utilizada nesse estudo, percebeu-se a necessidade de buscas por diferentes fontes para a produção de biocombustível, considerando-se os potenciais agrônômicos e econômicos sugeridos por espécies vegetais.

Em todo o país e no exterior existe uma busca incessante em desenvolver e aprimorar pesquisas ligadas à biotecnologia de forma inovadoras que possam aprofundar-se na exploração sustentável da biomassa para a geração de novas energias. Tais buscas centram nas biomassas de vários setores produtivos da cadeia econômica brasileira.

Nesse entendimento, tais esforços estão ligados principalmente na agroindústria em decorrência do grande setor sucroalcooleiro presente no Brasil. Entretanto, há relevantes resultados de pesquisa sobre outras fontes de energia originadas da biomassa florestal e avançam os estudos sobre a energia dos resíduos urbanos e industriais como é o caso dos óleos residuais de frituras demonstrados aqui neste trabalho. Tais esforços já é uma realidade como detectados em muitos trabalhos descritos nos referenciais teóricos e ao longo deste trabalho.

As investigações comprovam que existe viabilidade de produção, após as modificações, para que seja produzido biodiesel a partir de óleos de frituras utilizando biocatalizadores, neste estudo, Lipase CALB e Eversa® Transform 2.0.

Como sugestões para futuras pesquisas é importante que se façam reações de imobilização da ET2.0 e o estudo de ciclos para diagnosticar o comportamento da enzima imobilizada, já que os resultados com a enzima livre foram muito satisfatórios, visto que, neste estudo, algumas condições reacionais não apresentaram rendimentos favoráveis, portanto, devem ser otimizadas para emprego eficiente da enzima com reuso no processo de produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

- ABRAMOVAY, Ricardo. Inovações para que se democratize o acesso à energia, sem ampliar as emissões. **Ambient. soc.**, São Paulo, v. 17, n. 3, p. 01-18, set. 2014. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1414-753X2014000300002&lng=pt&nrm=iso>. Acesso em: 13 jul. 2020. <https://doi.org/10.1590/S1414-753X2014000300002>.
- AGUIAR, Reullyanne Freitas de. **Levantamento da fauna microalgal da lagoa de Maracanaú-CE, visando cultivo em microescala e a produção de biodiesel a partir da espécie *Chlorella SP***. 2016. 84f. Dissertação (mestrado em energias renováveis) – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Ceará, Maracanaú, 2016. Disponível em: <http://ppger.ifce.edu.br/wp-content/uploads/2017/12/AGUIAR-R.-F..pdf>. Acesso em: 04. set. 2021.
- ALVES FILHO, Paulo Villar da Costa; RINALDI, Rodrigo Barcellos Mano; SILVA, Sillas dos Santos. **Estudo de viabilidade da coleta e transporte de óleo de fritura para produção de biodiesel no distrito Butantã**. 2018. 107f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – EPUSP, São Paulo, 2018. Disponível em: <https://repositorio.usp.br/directbitstream/d206141b-0725-4b51-a22d-54e2188609e9/PAULO%20VILLAR%20DA%20COSTA%20ALVES%20FILHO.pdf>. Acesso em: 19 ago. 2022.
- ANGAJALA, G.; PAVAN, P.; SUBASHINI, R. Lipases: An overview of its current challenges and prospectives in the revolution of biocatalysis. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 7, p. 257-270, 2016.
- ANJOS, J. P.; ROCHA, G. O.; ANDRADE, J. B; Matriz energética e o binômio água vs. energia para o Brasil. **Ciência Cultural.**, São Paulo, v. 66, n. 4, dez. 2014. Disponível em: <http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252014000400002&lng=en&nrm=iso>. Acesso em: 17 nov. 2020.
- ANP. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustível. Biodiesel. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-de-biocombustiveis/biodiesel>. Acesso em: 25 abr. de 2020.
- AKBAR, Emil et al. Characteristic and composition of *Jatropha curcas* oil seed from Malaysia and its potential as biodiesel feedstock feedstock. **European journal of scientific research**, v. 29, n. 3, p. 396-403, 2009.
- BALEŽENTIS, Tomas et al. The role of bioenergy in greenhouse gas emission reduction in EU countries: An Environmental Kuznets Curve modelling. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 142, p. 225-231, 2019.
- BARBOSA, Camila da Silva et al. **Proposta de logística reversa do óleo residual de fritura**. 2019. 64f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal Rural da Amazônia, 2019. Disponível em: <http://bdta.ufra.edu.br/jspui/bitstream/123456789/348/1/PROPOSTA%20DE%20LOG%20C3%8DSTICA%20REVERSA%20DO%20C3%93LEO%20RESIDUAL%20DE%20FRITURA.pdf>. Acesso em 26 set. 2020.

BiodieselBR. **Biodiesel**. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/definicao/o-que-e-biodiesel>. Acesso em: 04 jan. 2020.

BiodieselBR. **Óleo reciclado representou 12,5% do biodiesel fabricado pela JBS em 2018**. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/info/oleo-reciclado-representou-12-5-do-biodiesel-fabricado-pela-jbs-em-2018-210219>. Acesso em: 16 ago. 2021.

BORNSCHEUER, Uwe T. (Ed.). *Lipid modification by enzymes and engineered microbes*. Elsevier, 2018.

BOZBAS, Kahraman. Biodiesel as an alternative motor fuel: Production and policies in the European Union. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 12, n. 2, p. 542-552, 2008.

BRASIL. **Balanco Energético Nacional 2020: Ano base 2019**. Rio de Janeiro: 2020a.

BRASIL. **Resenha Energética Brasileira: ano base 2019 - Ministério de Minas e Energia**. Rio de Janeiro: 2020b.

BRASIL. **Lei n. 11.097, de 13 de janeiro de 2005**. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira; altera as Leis nºs 9.478, de 6 de agosto de 1997, 9.847, de 26 de outubro de 1999 e 10.636, de 30 de dezembro de 2002; e dá outras providências. Disponível em: http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_Ato2004-2006/2005/Lei/L11097.htm. Acesso em: 04 jan. 2020.

BOZIO, Douglas de Mafra. **Perspectivas das energias renováveis e não renováveis nas matrizes energéticas e elétricas**. 2018. 66f. Trabalho de Conclusão de Curso (Especialização em Gestão Ambiental em Municípios) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, 2018. Disponível em: <https://repositorio.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/22667/1/perspectivasenergiasrenovaveismatriz.pdf>. Acesso em: 26 set. 2020.

BURG, Vanessa et al. Valorization of an untapped resource: energy and greenhouse gas emissions benefits of converting manure to biogas through anaerobic digestion. **Resources, Conservation and Recycling**, v. 136, p. 53-62, 2018.

CAMPOS, Filipe Rodrigues Nogueira. **Diversificação da matriz energética baseada em recursos renováveis: impactos sobre a segurança elétrica brasileira**. 2018. 128 f. Dissertação (Mestrado em Energia) - Programa de Pós-Graduação em Energia, Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo, São Mateus, 2018.

CAO, L. Immobilized enzymes: Science or art? **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 9, n. 2, p. 217-226, 2005.

CARVALHO, Patrícia de Oliveira et al. Aplicação de lipases microbianas na obtenção de concentrados de ácidos graxos poliinsaturados. **Química Nova**, v. 26, p. 75-80, 2003.

CARVALHO, Hugo Machado; RIBEIRO, Aldinei Barreto. Biodiesel: Vantagens e desvantagens numa comparação com o diesel convencional. **Bolsista de Valor: Revista de**

divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense, Rio de Janeiro, v. 2, n. 1, p. 49-53, 2012.

CARVALHO, Nayara B.; LIMA, Álvaro S.; SOARES, Cleide M. F. Uso de sílicas modificadas para imobilização de lipases. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 399-409, 2015.

CAVALCANTI, Marcello Henrique da Silva et al. Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) e seu uso como suporte para imobilização de lipase *Thermomyces lanuginosus* (TLL). 2020. 86 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG, 2020. Disponível em: <http://bdtd.unifal-mg.edu.br:8080/bitstream/tede/1811/5/Disserta%20c3%a7%20a3o%20de%20Marcello%20Henrique%20da%20Silva%20Cavalcanti.pdf>. Acesso em: 26 set. 2021.

CHANG, M. Y.; CHAN, E. S.; SONG, C. P. Biodiesel production catalysed by low-cost liquid enzyme Eversa® Transform 2.0: Effect of free fatty acid content on lipase methanol tolerance and kinetic model. **Fuel**, v. 283, n. October 2020, 2021.

CHERINI, A. P.; VEIGA JÚNIOR, J. C. V. Política pública energética no Brasil: As formas de fomento estatal ao uso de energias renováveis. p. 305–322, 2019.

CHOI, J. M.; HAN, S. S.; KIM, H. S. Industrial applications of enzyme biocatalysis: Current status and future aspects. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 7, p. 1443–1454, nov. 2015.

CNI – Confederação Nacional da Indústria; Banco Nacional do Desenvolvimento Econômico e Social; Serviço Brasileiro de Apoio às Micro e Pequenas Empresas. (2010). Pesquisa gestão ambiental na indústria brasileira. Rio de Janeiro, 2010.

Companhia Energética de Minas Gerais. Alternativas Energéticas: uma visão Cemig. Belo Horizonte: Cemig, 2012.

COELHO, Felipe de Luca Lima et al. Produção de biodiesel de óleo de fritura residual em um módulo didático de biodiesel. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 5, p. 28844-28851, 2020.

CORDEIRO, C.S.; SILVA, R.S.; WYPYCH F.; RAMOS, L. P. Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). **Química Nova**, vol.34 nº.3, 2011.

COSTA, R. S. da et al. Produção de biodiesel em usina piloto a partir de óleo de fritura usado. *In: Anais da V MOSTRA DE PESQUISA DA PÓS-GRADUAÇÃO*. Porto Alegre: PUCRS, 2010. p. 590 - 592.

COSTA, Bruna Zucoloto; LIMA, Valeria Marta Gomes; GIESE, Ellen Cristine; DEKKER, Robert Frans Huibert; BARBOSA, Aneli de Melo; MESSIAS, Josana Maria. *In: Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas*, Londrina, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

CORRÊA, Livia Pita et al. Impacto ambiental causado pelo descarte de óleo: estudo do destino que é dado para o óleo de cozinha usado pelos moradores de um condomínio residencial em Campos dos Goytacazes-RJ. **Revista Brasileira de Planejamento e Desenvolvimento**, v. 7, n. 3, p. 341-352, 2018.

CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GÓMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. Campinas, São Paulo. Editora Unicamp, 2008. 29 p.

CORTEZ, Luís Augusto Barbosa (Ed.). **Proálcool 40 anos: Universidades e empresas: 40 anos de ciência e tecnologia para o etanol brasileiro**. Editora: Blucher, 2018.

CRAGGS, Laura; GILBERT, Paul. Sustainable greenhouse gas reductions from bioenergy systems—climate change: A bioenergy driver and constraint. *In: Greenhouse Gas Balances of Bioenergy Systems*. Academic Press, 2018. p. 1-10.

CURTRIGHT, A.E., JOHNSON, D.R., WILLIS, H.H., SKONE, T., 2012. **Scenario uncertainties in estimating direct land-use change emissions in biomass-to-energy life cycle assessment**. *Biomass Bioenergy* 47, 240–249. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0961953412003777>. Acesso em: 03. mar. 2021.

DA SILVA, Simão Pereira et al. A IMPORTÂNCIA DA BIOMASSA NA MATRIZ ENERGÉTICA BRASILEIRA. **Pensar Acadêmico**, v. 19, n. 2, p. 557-583, 2021.

DECICINO, R. (s.d). **Material orgânico pode ser combustível**. Disponível em: <http://educacao.uol.com.br/disciplinas/geografia/biomassa-material-organico-pode-ser-combustivel.htm>. Acesso em 21 jul. 2020.

DE OLIVEIRA, Gabriela Magalhães et al. Análise do uso do biocombustível como alternativa para a diminuição da poluição atmosférica. *In: Anais do Congresso Nacional Universidade, EAD e Software Livre*.

DE SOUZA RODRIGUES, Priscilla Coppola et al. Técnicas de reciclagem de óleo residual de fritura: ressignificando a produção de sabão e vela. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 6, p. 64187-64197, 2021.

DIB, Fernando Henrique. **Produção de biodiesel a partir de óleo residual reciclado e realização de testes comparativos com outros tipos de biodiesel e proporções de mistura em um moto-gerador**. 2010. 118 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Estadual Paulista, Ilha Solteira, 2010. Disponível em: < <https://www.feis.unesp.br/Home/departamentos/engenhariamecanica/nuplen/producao-de-biodiesel-a-partir-de-oleo-residual-reciclado-e-realizacao-de-testes-comparativos-com-outros-tipos-de-biodiesel-e-proporcoes-de-mistura-em-um-moto-gerador.pdf> >. Acesso em: 20 abr. 2019.

DO NASCIMENTO, Tassio Lessa et al. Avaliação do óleo e biodiesel de soja (glycine max) a partir de parâmetros físico-químicos. **Brazilian Journal of Development**, v. 6, n. 3, p. 12685-12695, 2020.

DOS SANTOS, Crislane Arruda et al. Um modelo de sistema de informação gerencial: vantagem competitiva no processo da logística reversa do óleo de cozinha. **Research, Society and Development**, v. 4, n. 1, p. 62-88, 2017.

DUGUET, E.; VASSEUR, S.; MORNET, S.; DEVOISSELLE, J. Magnetic nanoparticles and their applications in medicine. *Nanomedicine*, **Future Medicine**, v. 1, n. 2, p. 157–168, 2006.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética. Disponível em: <http://www.epe.gov.br>. Rio de Janeiro/RJ. 2009. Acesso em: 21 jul. de 2020.

EPE – Empresa de Pesquisa Energética. Disponível em: <https://www.epe.gov.br/pt/abcdenergia/matriz-energetica-e-eletrica#ENERGETICA>. Rio de Janeiro/RJ. Acesso em: 21 jul. de 2021.

FARGIONE, J., HILL, J., TILMAN, D., POLASKY, S., HAWTHORNE, P., 2008. **Land clearing and the biofuel carbon debt. Science** 319, 1235–1238.

FARIA, Rita C. M. et al. Desenvolvimento e validação de metodologia de análise de misturas biodiesel: diesel utilizando cromatografia gasosa-espectrometria de massas. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p. 1900-1905, 2007.

FARIAS, Marcela Yara Vasconcelos de. **Imobilização de enzimas em nanopartículas magnéticas visando aplicação na produção de ésteres**. Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Curso de Engenharia Química, Fortaleza, 2017. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/36038/3/2017_tcc_myvfarias-1.pdf. Acesso em: 04. ago. 2021.

FERRAZ, R. T.; CODECEIRA, A. **Diversificação da Matriz de Energias Renováveis no Brasil: O Desenvolvimento das Novas Fontes de 2010 a 2016**. v. 2, p. 110–117, 2017.

FERNANDES, Ilizandra Aparecida. ESTUDO DA IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES UTILIZANDO POLI-HIDROXIBUTIRATO-CO-HIDROXIVALERATO (PHBV) E POLIURETANO (PU) COMO SUPORTES. Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões Uri-Erechim. Doutorado. Maio/2013.

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

FIEC. HUB de Hidrogênio Verde é lançado no Ceará com a parceria da FIEC. Disponível em: <https://www1.sfiac.org.br/sites/numa/?st=noticia&id=139592>. Acesso em: 30 ago. 2021.

FILHO, D. G.; SILVA, A. G.; GUIDINI, C. Z. Lipases: sources, immobilization methods, and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 103, n. 18, p. 7399–7423, 2019.

FONSECA, Jhessica Marchini et al. Biodiesel from waste frying oils: Methods of production and purification. **Energy conversion and management**, v. 184, p. 205-218, 2019.

FURLANI, Izadora L. et al. Imobilização enzimática: conceito e efeitos na proteólise. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 43, n. 4, p. 463-473, Apr. 2020. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422020000400463&lng=en&nrm=iso>. access on 30 Aug. 2020. Epub June 10, 2020. <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170525>.

FRAGA, F. C. et al. Effect of magnetic field on the Eversa® Transform 2.0 enzyme: Enzymatic activity and structural conformation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 122, p. 653–658, 2019.

GANDOLFI, Marcus Vinícius Cavalcanti et al. panorama atual sobre o biodiesel no brasil e o aproveitamento de microalgas como fonte de matéria-prima. **Revista Engenharia em Ação UniToledo**, v. 3, n. 1, 2018.

Global Energy & CO₂ Status Report. Disponível em: <<https://www.iea.org/geco/>>. Acesso em: 10 jun 2019.

GODOY, Marcelo Andrade. Estudo da lipase Eversa® Transform 2.0 nas formas livre e imobilizada e sua aplicação na reação de transesterificação da triacetina. Viçosa, MG, 2019.

GOLDEMBERG, José; LUCON, Oswaldo. Energia e meio ambiente no Brasil. **Estud. av.**, São Paulo, v. 21, n. 59, p. 7-20, Apr. 2007. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-40142007000100003&lng=en&nrm=iso>. access on 29 Apr. 2021. <https://doi.org/10.1590/S0103-40142007000100003>.

GUIMARÃES, Regina et al. Revista de Extensão e Iniciação Científica SOCIESC – REIS – Avaliação de tipos de pré-tratamento de óleo usado de fritura para produção de biodiesel. **Revista de Extensão e Iniciação Científica**, Florianópolis, v. 1, n. 1, p.23-27, jul. 2014. Disponível em: <<http://www.sociesc.org.br/reis/index.php/reis/article/view/11>>. Acesso em: 22 abr. 2019.

HARTMANN, Diana et al. **Imobilização e estabilização de enzimas em materiais nanoestruturados**. 2020. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/212013>. Acesso em: 14. maio. 2022.

HE, L.Y., HOU, B.D., LIAO, H., 2018. Rural energy policy in China: achievements, challenges and ways forward during the 40-year rural reform. *China Agric. Econ. Rev.* 10(2), 224–240. <https://doi.org/10.1108/CAER-10-2017-0190>.

HERNÁNDEZ-MARTÍN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym® 435 and Lipozyme® TL IM. *Bioresource Technology*, **Essex**, v. 99, p. 277-286, 2008.

IAL. Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4. ed. São Paulo: Barnaúba, 2005. 1000 p.

IMMERZEEL, D.J., VERWEIJ, P.A., VAN DER HILST, F., FAAIJ, A.P.C., 2014. Biodiversity impacts of bioenergy crop production: a state-of-the-art review. **GCB Bioenergy** 6, 183–209.

ISMAIL, A. R.; KASHTOH, H.; BAEK, K. H. Temperature-resistant and solvent-tolerant lipases as industrial biocatalysts: Biotechnological approaches and applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 187, n. May, p. 127–142, 2021.

KIM, H.; YOUN, S.; SHIN, C. Lipase-catalyzed synthesis of sorbitol–fatty acid esters at extremely high substrate concentrations. *Journal of biotechnology*, **Elsevier**, v. 123, n. 2, p. 174–184, 2006.

KNOTHE, Gerhard; KRAHL, Jürgen; VAN GERPEN, Jon (Ed.). **The biodiesel handbook**. Elsevier, 2015.

KUMAR, Ashwani; SHARMA, Satyawati. Potential non-edible oil resources as biodiesel feedstock: an Indian perspective. *Renewable and Sustainable*. **Energy Reviews**, v. 15, n. 4, p. 1791-1800, 2011.

LEI, L.; BAI, Y.; LI, Y.; YI, L.; YANG, Y.; XIA, C. Study on immobilization of lipase onto magnetic microspheres with epoxy groups. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. **Elsevier**, v. 321, n. 4, p. 252–258, 2009.

LEWANDOWSKI, Iris. Securing a sustainable biomass supply in a growing bioeconomy. **Global Food Security**, v. 6, p. 34-42, 2015.

LI, B. et al. Biodiesel preparation from high acid value phoenix seed oil using Eversa transform 2.0 as a novel catalyst. **Biomass Conversion and Biorefinery**, n. 4, 2021.
LIMA, L.P. et al. Opacidade da fumaça de um trator agrícola funcionando com três fontes de biodiesel como combustível. **Ciência & Tecnologia**, v. 7, n. 1, 2015.

LORA, E. E. S.; VENTURINI, O. J. **Biocombustíveis**. Rio de Janeiro: Interciência, 2012.

MALESKI, Michele Maisa. **Produção de ésteres por biocatalisador utilizando gordura residuária proveniente da indústria de alimentos e energia**. 2018. 63 f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul Campus Erechim. Santa Catarina. 2018. Disponível em: <https://rd.uffs.edu.br/bitstream/prefix/3613/1/MALESKI.pdf>. Acesso em: 26 set. 2021.

MASIERO, Gilmar; LOPES, Heloisa. Etanol e biodiesel como recursos energéticos alternativos: perspectivas da América Latina e da Ásia. **Rev. bras. polít. int.**, Brasília, v. 51, n. 2, p. 60-79, Dec. 2008. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-73292008000200005&lng=en&nrm=iso>. access on 21 July 2020. <https://doi.org/10.1590/S0034-73292008000200005>.

MARINS, Daniel Sena; SANTOS, Mara Eliza; EM ALIMENTOS, Tecnóloga. Pré-tratamento do óleo residual de fritura para elevação de ph e diminuição de sólidos para a produção de biodiesel. **Revista da União Latino-americana de Tecnologia**, n. 5, p. 1-20, 2017.

MARQUES, Marcelo Volpatto et al. Determinação do teor de ésteres graxos em biodiesel metílico de soja por cromatografia gasosa utilizando oleato de etila como padrão interno. **Química Nova**, v. 33, n. 4, p. 978-980, 2010.

MARTINS, Silas Sarkiz da Silva et al. Produção de petróleo e impactos ambientais: algumas considerações. **Holos**, v. 6, p. 54-76, 2015.

- MESSIAS, J. M. et al. Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas. *In: Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina*, v. 32, n. 2, p.213-234, 30 set. 2011. Universidade Estadual de Londrina. <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0375.2011v32n2p213>. Disponível em: <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semexatas/article/view/8297>. Acesso em: 04 jan. 2020.
- MIURA, Adalberto Koiti. Identificação de áreas potenciais para cultivos destinados à produção de bioenergia com apoio de geotecnologias. **Embrapa Clima Temperado-Texto para Discussão (ALICE)**, 2012. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/929268/1/TeseAdalbertoKoitiMiura.pdf>>. Acesso em: 10 jul. 2020.
- MOAZENI, Faegheh; CHEN, Yen-Chih; ZHANG, Gaosen. Enzymatic transesterification for biodiesel production from used cooking oil, a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 216, p. 117-128, 2019.
- Molina-Gutiérrez M, Alcaraz L, López FA, Rodríguez-Sánchez L, Martínez MJ, Prieto A. Immobilized Forms of the *Ophiostoma piceae* Lipase for Green Synthesis of Biodiesel. **Comparison with Eversa Transform 2.0 and Cal A. J Fungi (Basel)**. 2021 Sep 30;7(10):822. doi: 10.3390/jof7100822. PMID: 34682243; PMCID: PMC8539422.
- MONTEIRO, Rodolpho Ramilton Castro. et al. Liquid lipase preparations designed for industrial production of biodiesel. Is it really an optimal solution? **Renewable Energy**, 2021.
- MORAIS, Marcelo Mariano et al. Comparação entre métodos de purificação de óleos vegetais por degomagem visando à produção de biodiesel. **Anais do VII CONNEPI**. Palmas, 2012.
- MOREIRA, Katerine da S. et al. Lipase from *Rhizomucor miehei* immobilized on magnetic nanoparticles: performance in fatty acid ethyl ester (FAEE) optimized production by the Taguchi method. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 8, p. 693, 2020.
- NELSON, David L. Princípios de bioquímica de Lehninger [recurso eletrônico] / David L. Nelson, Michael M. Cox; [tradução: Ana Beatriz Gorini da Veiga ... et al.]; revisão técnica: Carlos Termignoni... [et al.]. – 6. ed. – Dados eletrônicos. – Porto Alegre: Artmed, 2014.
- NERY, E. W.; KUBOTA, L. T. Evaluation of enzyme immobilization methods for paper-based devices-A glucose oxidase study. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 117, p. 551–559, 2016.
- NETTO, C.; ANDRADE, L.; TOMA, H. Enantioselective transesterification catalysis by *Candida antarctica* lipase immobilized on superparamagnetic nanoparticles. *Tetrahedron: Asymmetry*, **Elsevier**, v. 20, n. 19, p. 2299–2304, 2009.
- NIERO, Bruno et al. **Síntese de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com aminoácidos visando a imobilização de enzimas**. 2019. 67 f. Dissertação (Mestrado) Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 2017 Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/214841/PENQ0851-D.pdf?sequence=-1&isAllowed=y>. Acesso em: 04 abr. 2021.

NOGUEIRA, João Roberto Pereira. **Biodiesel a partir de óleo residual: catálise química x Catálise enzimática**. 2018. 80 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Energia, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira, Acaraú-Ceará, 2018.

OLIVEIRA, L. P.; MONTENEGRO, M. De A.; LIMA, F. C. A.; SUAREZ, P. A. Z.; SILVA, E. C.; MENEGHETTI, M. R.; MENEGHETTI, S. M. P. **Biofuel production from Pachira aquatic Aubl and Magonia pubescens A St-Hil**: Physical-chemical properties of neat vegetable oils, methyl-esters and bio-oils (hydrocarbons). *Industrial Crops and Products*, Volume 127, January 2019, Pages 158-163.

PANDEY, Ashok et al. (Ed.). *Biomass, Biofuels, Biochemicals: Biofuels: Alternative Feedstocks and Conversion Processes for the Production of Liquid and Gaseous Biofuels*. **Academic Press**, 2019.

PATRÍCIO, J. S.; HOTZA, D.; NONI JÚNIOR, A. de. Argilas adsorventes aplicadas à clarificação de óleos vegetais. **Química Nova**, Campinas, v. 26, n. 5, p.171-178, jun. 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ce/v60n354/a02v60n354.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2019.

PAUL, S., Dutta, A., 2018. Challenges and opportunities of lignocellulosic biomass for anaerobic digestion. *Resour. Conserv. Recycl.* 164–174.

PENA, Rodolfo F. Alves. **Fontes não renováveis de energia**. Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilestela.uol.com.br/geografia/fontes-nao-renovaveis-energia.htm>. Acesso em: 29 abr. de 2020.

PETROBRAS. **Petrobras Biocombustível inicia processo de desmobilização da Usina de Biodiesel de Quixadá**. Disponível em: https://www.agenciapetrobras.com.br/Materia/ExibirMateria?p_materia=978825&p_editoria=33. Acesso em: 29 de abr. 2020.

PINHEIRO, M. B. C. **Previsão da produção de fontes renováveis e não renováveis selecionadas da matriz energética brasileira**. Fortaleza: Universidade federal do Ceará, 2020.

PURKUS, A., GAWEL, E., THRÄN, D., 2017. Addressing uncertainty in decarbonisation policy mixes – lessons learned from German and European bioenergy policy. **Energy Res. Social Sci.** 33, 82–94.

RAMOS, Luiz Pereira et al. Biodiesel: Matérias-Primas, Tecnologias de Produção e Propriedades Combustíveis. **Revista Virtual de Química**, v. 9, n. 1, p.317-369, 2017.

RAMOS, Luiz Pereira et al. Tecnologias de Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, v. 3, n. 5, p.385-405, 22 out. 2011. Disponível em: <http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v3n5a04.pdf>. Acesso em: 04 jan. 2020.

RAMOS, Kaio de Assis et al. **Transição energética–conceituações, recursos energéticos e perspectivas para Alemanha e os EUA**. 2018. 107f. TCC (graduação) - Departamento de Economia e Relações Internacionais. Centro Socioeconômico. Universidade Federal de Santa

Catarina. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/handle/123456789/188608>. Acesso em: 02 fev. 2022.

RAZACK, S. A.; DURAIARASAN, S. Response surface methodology assisted biodiesel production from waste cooking oil using encapsulated mixed enzyme. **Waste Management**, v.47, p. 98-104, 2016.

RIGO, Diane et al. Produção Microbiológica de Enzimas: uma Revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 1, p. 9232-9254, 2021.

ROCHA, L. S. da; COSTA, R. G. S. **As vantagens e desvantagens das energias renováveis e não renováveis**. 2014. p. 2. Disponível em:

<<http://www2.unigranrio.br/recursos/documentos/ICJr/12ICJr.pdf>>. Acesso em 28 jan. 2020.

ROCHA, Caroline Oliveira da. **Nanopartículas magnéticas como suporte para imobilização de lipases**. 2016. 57 f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Química, Araraquara, São Paulo. Disponível em: https://repositorio.unesp.br/bitstream/handle/11449/137809/rocha_co_me_araiq.pdf?sequence=3&isAllowed=y. Acesso em: 10 ago. 2021.

ROCHA, Nelson. **Impactos da Covid-19 no setor da energia sob a ótica do mercado**. Agência Canal Energia. Rio de Janeiro, 20 de jul. de 2020.

ROYON, D. et al. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using t-butanol as a solvent. *Bioresource Technology*, **Essex**, v. 98, p. 648-653, 2007.

SALES, Júlia. O que esperar do setor de energias renováveis na América Latina? **Revista Petrel**. v 3. n° 5, 2021. Disponível em: <http://petrel.unb.br/destaques/135-revista-petrel-v-3-n-5-mai-2021>. Acesso em: 24 ago. 2022.

SANTANA, Harrson S. et al. Transesterification reaction of sunflower oil and ethanol for biodiesel synthesis in microchannel reactor: Experimental and simulation studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 302, p. 752-762, 2016.

SANTIN, C.M.T; OLIVEIRA, D. de; OLIVEIRA, J.V. Análise comparativa entre o óleo de soja e o óleo de macaúba na produção de ésteres etílicos em modo contínuo. *In: Anais do XX CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA QUÍMICA - COBEQ 2014* [= Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2]. São Paulo: Blucher, 2015. ISSN 2359-1757

SANTOS, I.F.S.D., Vieira, N.D.B., NÓBREGA, L.G.B., BARROS, R.M., Filho, G.L.T., 2018. **Assessment of potential biogas production from multiple organic wastes in Brazil: impact on energy generation, use, and emissions abatement**. *Resour. Conserv. Recycl.* 131, 54–63.

SANTOS, Mauricio Xavier; DA SILVA, José Geraldo Ferreira. **Aproveitamento do óleo residual de fritura na produção de biodiesel**. 2019.

SCHAFER, Thaynara Marjô Zanette. SÍNTESE DE NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS: UMA REVISÃO SISTEMÁTICA DA LITERATURA CIENTÍFICA. **Revista Mundi Engenharia, Tecnologia e Gestão (ISSN: 2525-4782)**, v. 1, n. 2, 2017.

SCHERER, Marisa Daniele. **Caracterização óptica do diesel, biodiesel, óleo e suas misturas: Desenvolvimento de uma metodologia alternativa para a quantificação do teor de biodiesel na mistura diesel/biodiesel.** 2011.

SCHEITERLE, L., ULMER, A., BIRNER, R., PYKA, A., 2017. **From commodity-based value chains to biomass-based value webs: the case of sugarcane in Brazil's bioeconomy.** J. Cleaner Prod. 1–13.

SHALINI, P. et al. Synthesis and characterisation of lipase immobilised magnetic nanoparticles and its role as a catalyst in biodiesel production. **Materials Today: Proceedings**, 2021.

SHAO, Q.L., RAO, L., 2018. **The rebound effect of dematerialization and decoupling: a case of energy efficiency.** Chin. J. Population Res. Environ. <https://doi.org/10.1080/10042857.2018.1544755>.

SHIMADA, Y., WATANABE, Y., SAMUKAWA, T. et al. Conversion of vegetable oil to biodiesel using immobilized *Candida antarctica* lipase. **J Amer Oil Chem Soc** **76**, 789–793 (1999). <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0067-6>.

SHELDON, R.A; van Pelt S, Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. **Chem Soc Rev** 42:6223–6235 (2013). <https://doi.org/10.1039/c3cs60075k>.

SILVA, Wellington Costa et al. Thermal degradation of ethanolic biodiesel: Physicochemical and thermal properties evaluation. **Energy**, v. 114, p. 1093-1099, 2016.

SILVA, Bruno Alves Sousa da. **Óleo de fritura: obtenção de biodiesel por biocatálise (Nanopartículas magnéticas/enzimas).** 2017. 37 f. TCC (Graduação) - Curso de Engenharia de Energias, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-brasileira, Acarape, 2017. Disponível em: repositorio.unilab.edu.br/jspui/handle/123456789/956. Acesso em: 04.fev. 2022.

SILVA, T. B. L. DA. **Tecnologia para reaproveitamento de rejeitos orgânicos para geração de energia.** Natal: Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2019.

SILVA, Marcelo. S da. **Energia Elétrica.** 2009. Editora Alameda. Disponível em: https://www.suapesquisa.com/o_que_e/energia_eletrica.htm. Acesso em: 18 ago. 2020.

SILVA, Emylle Cristine Alves et al. **Fatores explicativos dos conflitos internacionais relacionados a segurança energética do petróleo.** 2020. 49f. TCC (Graduação) - Curso de Ciência e Tecnologia, Universidade Federal do Semi-árido. Disponível em: repositorio.ufersa.edu.br/bitstream/prefix/4881/1/EmylleCAS_MONO.pdf Acesso em: 03 fev. 2022.

SILVA, Munique Cristiane Tavares Santos et al. **Revestimentos utilizados em nanopartículas magnéticas para imobilização de enzimas: uma revisão.** 2020. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/346250959_REVESTIMENTOS_UTILIZADOS_EM_NANOPARTICULAS_MAGNETICAS_PARA_IMOBILIZACAO_DE_ENZIMAS_UM_A_REVISAO. Acesso em: 22 ago. 2022.

SONG, Chunfeng et al. Evaluation of hydrolysis–esterification biodiesel production from wet microalgae. **Bioresource technology**, v. 214, p. 747-754, 2016.

SOUZA, Maria Cristiane Martins de. **Imobilização de lipase de Candida Antarctica do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. 2013. 88 f. Tese (Doutorado) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013. Disponível em: <http://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/5041>. Acesso em: 02. abr. 2022.

SOUZA, Maria Cristiane Martins de et al. Production of flavor esters catalyzed by lipase B from Candida antarctica immobilized on magnetic nanoparticles. **Braz. J. Chem. Eng.**, São Paulo, v. 34, n. 3, p. 681-690, July 2017. Available from <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66322017000300681&lng=en&nrm=iso>. access on 22 May 2021. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150575>.

SOUZA, G.M., BALLESTER, M.V.R., de BRITO CRUZ, C.H., Chum, H., DALE, B., DALE, V.H., FERNANDES, E.C.M., FOUST, T., KARP, A., LYND, L., FILHO, R.M., MILANEZ, A., NIGRO, F., OSSEWEIJER, P., VERDADE, L.M., VICTORIA, R.L., VAN DER WIELEN, L., 2017. **The role of bioenergy in a climate-changing world**. **Environ. Dev.** 23, 57–64.

SOUZA, Maria Heloísa Medeiros de et al. **Impactos do covid-19 no setor energético**. 2020. 26f. TCC (Graduação) - Curso de Ciência e Tecnologia, Centro Multidisciplinar de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal Rural do Semi-Árido. Disponível em: <https://repositorio.ufersa.edu.br/handle/prefix/5954>. Acesso em: 03. maio. 2022.

TAN, Tianwei et al. Biodiesel production with immobilized lipase: a review. **Biotechnology advances**, v. 28, n. 5, p. 628-634, 2010.

THAKUR, Sumita. Lipases, its sources, Properties and Applications: A Review. **International Journal of Scientific & Engineering Research**, v. 3, n. 7, July-2012 Himachal Pradesh University, Summer Hill, Shimla, India. Disponível em: Lipases, its sources, Properties and Applications: A Review. Acesso em: 03. abr. 2022.

TIRITAN, Maria Gabriela et al. **Refino de óleos vegetais via extração líquido-líquido em escala piloto com eliminação das etapas de clarificação e desodorização**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Tecnológica Federal do Paraná.

TOLMANSQUIM, Maurício. Tiommo. **Energia Renovável: Hidráulica, Biomassa, Eólica, Solar, Oceânica**. 1 ed. Rio de Janeiro: Empresa de Pesquisa Energética – EPE, 2016. v 01. Disponível em: <https://epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-172/Energia%20Renovável%20-%20Online%2016maio2016.pdf>. Acesso em: 03 ago. 2022.

TOLMASQUIM, Mauricio T.; GUERREIRO, Amilcar; GORINI, Ricardo. Matriz energética brasileira: uma prospectiva. **Novos estud. - CEBRAP**, São Paulo, n. 79, p. 47-69, nov. 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0101-33002007000300003>. Acesso em 18. ago. 2020.

TORRES, Mayara Silva. **Influência de campo magnético nas lipases Candida antarctica B (CalB) e NS-40116**. 2017. 93f. Dissertação (mestrado), Centro Tecnológico, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos - Universidade Federal de Santa Catarina,, Florianópolis, 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/handle/123456789/182604>. Acesso em: 03.fev. 2022.

VARÃO, Leandro Henrique Ribeiro et al. **Síntese de biodiesel metílico via esterificação utilizando nanopartículas magnéticas funcionalizadas com lignina sulfonada como catalisadores heterogêneos**. 2017. Disponível em: <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/20310>. Acesso em: 09 set. 2022.

VELA, Mary Angélica Ferreira et al. Enzymatic transesterification of waste frying oil from local restaurants in east colombia using a combined lipase system. **Applied Sciences**, v. 10, n. 10, p. 3566, 2020.

VELOSO, Yago Matheus et al. Rotas para reutilização de óleos residuais de fritura. **Caderno de Graduação-Ciências Exatas e Tecnológicas-UNIT-SERGIPE**, v. 1, n. 1, p. 11-18, 2012.

VERMELHO, Alane Beatriz; PAIVA, Carmen Lucia Antao; ALENCASTRO, Ricardo Bicca de; COELHO, Rosalie R.R. **Enzimas em Biotecnologia: Produção, aplicação e mercado**. ed. Interciencia. Rio de janeiro. RJ. 2008. Disponível em: Capítulos de Livros | Bioetanol (bioetanol-ufrrj.com.br). Acesso em: 03 mar. 2022.

VIEIRA, Gláucia Eliza Gama et al. Biomassa: uma visão dos processos de pirólise. **Revista Liberato**, v. 15, n. 24, p. 167-178, 2014.

ZHANG, Huaxia et al. Lipases immobilized on the modified polyporous magnetic cellulose support as an efficient and recyclable catalyst for biodiesel production from Yellow horn seed oil. **Renewable Energy**, v. 145, p. 1246-1254, 2020.

ZHONG, Le et al. Production and use of immobilized lipases in/on nanomaterials: A review from the waste to biodiesel production. **International journal of biological macromolecules**, v. 152, p. 207-222, 2020.

WANG, Haoqi et al. Greenhouse gas emission reduction potential and cost of bioenergy in British Columbia, Canada. **Energy Policy**, v. 138, p. 111285, 2020.

WIKMARK, Ylva. **Engineering Candida antarctica Lipase A for Enantioselective Transformations in Organic Synthesis Design, Immobilization and Organic Solvent Screening of Smart Enzyme Libraries**. 2015. Disponível em: Engineering Candida antarctica Lipase A for Enantioselective Transformations in Organic Synthesis: Design, Immobilization and Organic Solvent Screening of Smart Enzyme Libraries (diva-portal.org). Acesso em: 09 maio 2022.

YONG, Y.; BAI, Y.; LI, Y.; LIN, L.; CUI, Y.; XIA, C. Characterization of Candida rugosalipase immobilized onto magnetic microspheres with hydrophilicity. *Process Biochemistry*. **Elsevier**, v. 43, n. 11, p. 1179–1185, 2008.