



UNILAB

UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA

AFRO-BRASILEIRA

INSTITUTO DE ENGENHARIAS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL (IEDS)

CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ENERGIAS

JOÃO NOGUEIRA CLEMENTE

**PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO DE FRITURA CATALISADO
PELA ENZIMA TLL SUPORTADA EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS**

REDENÇÃO

2024

JOÃO NOGUEIRA CLEMENTE

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO DE FRITURA CATALISADO PELA
ENZIMA TLL SUPORTADA EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Engenharia de Energias
do Instituto de Engenharias e Desenvolvimento
Sustentável (IEDS) da Universidade da Integra-
ção Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira,
como requisito parcial à obtenção do grau de
bacharel em Engenharia de Energias.

Orientadora: Prof^a. Dra. Maria Cristiane
Martins de Souza.

Coorientadora: Prof^a. Dra. Juliana de França
Serpa.

REDENÇÃO

2024

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

Clemente, Joao Nogueira.

C626p

Produção de biodiesel a partir de óleo de fritura catalisado pela enzima TLL suportada em nanopartículas magnéticas / Joao Nogueira Clemente. - Redenção, 2024.
54f: il.

Monografia - Curso de Engenharia De Energias, Instituto De Engenharias E Desenvolvimento Sustentável, Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, 2024.

Orientadora: Profa. Dra. Maria Cristiane Martins de Souza.
Coorientadora: Profa. Dra. Juliana de França Serpa.

1. Biodiesel. 2. Esterificação. 3. Nanopartículas. 4. Óleos residuais. I. Título

CE/UF/BSCA

CDD 665.5383

JOÃO NOGUEIRA CLEMENTE

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO DE FRITURA CATALISADO PELA
ENZIMA TLL SUPORTADA EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao
Curso de Graduação em Engenharia de Energias
do Instituto de Engenharias e Desenvolvimento
Sustentável (IEDS) da Universidade da Integra-
ção Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira,
como requisito parcial à obtenção do grau de
bacharel em Engenharia de Energias.

Aprovada em: 12/11/2024.

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dra. Maria Cristiane Martins de Souza (Orientadora)
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira -
UNILAB

Prof^ª. Dra. Juliana de França Serpa (Coorientadora)
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^ª. Me. Kaiany Moreira dos Santos
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira -
UNILAB

À minha família, por sua capacidade de acreditar em mim e investir em mim. A meus amigos pelo suporte dado.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus pelo dom da vida e pelo amor incondicional. Sou grato também aos meus familiares que, sempre foram um suporte fundamental na minha vida pessoal e acadêmica. Agradeço à universidade UNILAB, especialmente ao Instituto de Engenharia, pela dedicação e comprometimento com o desenvolvimento de seus estudantes face as diversas dificuldades que cada um de nós passa. Ao grupo de pesquisa Genes da Unilab pelo carinho e acolhimento durante esta jornada de pesquisa para a elaboração deste trabalho magnífico.

A Prof. Dr. Maria Cristiane Martins de Souza, por ter me confiado e acreditado desde o início que esse trabalho seria possível, Prof. Dr. Juliana de França Serpa pela excelente orientação, dedicação e tolerância. Agradeço também ao Prof. Dr José Cleiton Sousa dos Santos pelos ensinamentos.

Aos colegas da turma de graduação, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas, essa vitória não é só minha, é de todos nós.

"Uma tecnologia suficientemente avançada é indistinguível da magia." (Arthur C. Clarke.)

RESUMO

A busca por fontes alternativas de energia é fundamental para mitigar o efeito estufa. Entre as opções sustentáveis para a produção de biodiesel, o uso de óleos residuais destaca-se como uma alternativa promissora e viável. Neste trabalho, foi investigada a produção de biodiesel a partir da esterificação enzimática de óleos residuais utilizando a lipase *Thermomyces lanuginosus lipase* (TLL) como catalisador. A eficiência do processo foi aprimorada pela imobilização da enzima em nanopartículas, permitindo sua reutilização em múltiplos ciclos até a diminuição de sua atividade catalítica. Os ácidos graxos, obtidos após hidrólise química do óleo, foram esterificados com etanol e metanol na proporção 1:1, a 37°C e sob agitação de 150 rpm, com tempos de reação variando de 2 a 72 horas. Observou-se que, durante 7 ciclos, o metanol inicialmente apresentou uma maior taxa de conversão, atingindo cerca de 80% no primeiro ciclo, porém com uma queda rápida nos ciclos subsequentes. Em contrapartida, o etanol, embora com conversão inicial ligeiramente menor (cerca de 70%), manteve uma estabilidade superior ao longo dos ciclos, com menor variação na eficiência.

Palavras-chave: biodiesel; esterificação; nanopartículas; óleos residuais.

ABSTRACT

The search for alternative energy sources is essential to mitigate greenhouse gas emissions. Among sustainable options for biodiesel production, the use of residual oils stands out as a promising and viable alternative. This study investigates biodiesel production through the enzymatic esterification of residual oils using *Thermomyces lanuginosus lipase* (TLL) as a catalyst. Process efficiency was enhanced by immobilizing the enzyme on nanoparticles, allowing for its reuse across multiple cycles until a decline in catalytic activity was observed. Fatty acids, obtained after chemical hydrolysis of the oil, were esterified with ethanol and methanol at a 1:1 ratio, at 37°C, and with stirring at 150 rpm, with reaction times ranging from 2 to 72 hours. Over 7 reaction cycles, it was observed that methanol initially achieved a higher conversion rate, reaching about 80% in the first cycle; however, a rapid decline in conversion occurred in subsequent cycles. Ethanol, while showing a slightly lower initial conversion (around 70%), maintained greater stability across cycles, exhibiting less variation in efficiency.

Keywords: biodiesel; esterification; nanoparticles; residual oils.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Reação de síntese do biodiesel por Esterificação	17
Figura 2 – Reações de Esterificação	17
Figura 3 – Produção de Biodiesel em litros	18
Figura 4 – Produção de Biocombustíveis	19
Figura 5 – Histograma de Produção de biodiesel por Ano	21
Figura 6 – Oléo residual de fritura	27
Figura 7 – Enzima TLL (<i>Thermomyces lanuginosus lipase</i>)	30
Figura 8 – Localização da Prefeitura de Acarape	36
Figura 9 – Determinação da densidade do óleo hidrolisado com auxílio de um picnômetro.	39
Figura 10 – Esquema da síntese enzimática heterogênea do biodiesel	40
Figura 11 – Esterificação dos ácidos graxos obtidos das hidrólises dos óleos de fritura com os álcoois etílicos (1:1) e metílicos (1:1) e utilizando o biocatalisadores TLL-NPM e a uma temperatura de 37 oC e agitação de 150 rpm e tempos reacionais de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48, 72h.	44
Figura 12 – Esterificação dos ácidos graxos obtidos das hidrólises dos óleos de fritura com os álcoois etílicos (1:1) e metílicos (1:1) e utilizando o biocatalisadores TLL-NPM e a uma temperatura de 37 oC e agitação de 150 rpm.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características e Métodos	23
Tabela 2 – Limite Máximo de Temperatura por Unidade da Federação (em °C)	24
Tabela 3 – Composição Química do Óleo de Cozinha Usado	26
Tabela 4 – Índice de Acidez de Diferentes Tipos de Óleo	42
Tabela 5 – Densidades dos óleos vegetais a 25°C	43
Tabela 6 – Umidades dos óleos brutos.	43

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	12
1.1	OBJETIVO GERAL	15
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
2.1	BIODIESEL	16
2.1.1	<i>BIODIESEL NA MATRIZ ENERGÉTICA</i>	18
2.1.2	<i>BIODIESEL NA MATRIZ ENERGETICA NACIONAL BRASILEIRA</i>	20
2.2	PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL	21
2.2.1	<i>Propriedades e Qualidade do Biodiesel</i>	22
2.2.2	<i>Propriedades congelantes do Biodiesel</i>	24
2.3	BIOMASSA	25
2.3.1	<i>Óleos residuais de fritura</i>	25
2.4	ENZIMAS	27
2.4.1	<i>Catalisadores Enzimáticos</i>	28
2.4.2	<i>Lipases</i>	28
2.4.2.1	<i>Enzima TLL (Thermomyces lanuginosus lipase)</i>	29
2.4.3	<i>Imobilização enzimática</i>	31
2.4.4	<i>Hidroesterificação</i>	32
2.4.4.1	<i>Reações de Hidrólise</i>	32
2.4.4.2	<i>Reações de Esterificação</i>	32
2.5	NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRO	34
3	METODOLOGIA	36
3.1	MATERIAL E MÉTODOS	36
3.1.1	<i>Materiais</i>	36
3.1.2	<i>Nanopartículas magnéticas (NPM)</i>	36
3.1.2.1	<i>Síntese de nanopartículas de magnética (NPM)</i>	37
3.1.3	<i>Pré-tratamento das matérias-primas</i>	37
3.1.3.1	<i>Hidrólise do Óleo Vegetal</i>	37
3.1.4	<i>Determinação do Índice de Acidez (IA)</i>	38
3.1.5	<i>Determinação da Densidade</i>	38

3.1.6	TRATAMENTO DO SUPORTE COM G-AMINOPROPILTRIETOXISILANO (APTES)	39
3.1.7	RETICULAÇÃO COM SOLUÇÃO DE GLUTARALDEÍDO (GLU)	39
3.1.8	Imobilização	40
3.1.8.1	Determinação da atividade enzimática	41
3.1.9	Cinetica	41
3.1.9.1	Esterificação enzimática	41
4	RESULTADOS	42
4.1	ÍNDICE DE ACIDEZ	42
4.2	DENSIDADES DO ÓLEO HIDROLISADO	43
4.3	TEOR DE UMIDADE	43
4.4	REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO	44
4.4.1	Reação de Esterificação Heterogênea	44
5	CONCLUSÕES	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

A produção de biodiesel a partir de óleo de fritura usado por meio de rota enzimática é uma abordagem sustentável que aborda duas questões importantes: a reutilização de resíduos e a produção de combustíveis limpos. Este trabalho se foca na produção de biodiesel usando óleo de cozinha descartado, um resíduo que, quando não corretamente tratado, pode causar impactos ambientais significativos. A utilização desse óleo para a produção de biodiesel não só evita o descarte inadequado, mas também contribui para a geração de uma fonte de energia renovável e menos poluente. O biodiesel é frequentemente considerado o biocombustível mais promissor, pois possui o potencial de substituir combustíveis fósseis convencionais, contribuindo significativamente para a redução das emissões de gases de efeito estufa e promovendo uma matriz energética mais sustentável. No entanto, a produção e a adoção em larga escala do biodiesel enfrentam desafios consideráveis. Ainda há um longo caminho a percorrer para sua plena utilização como substituto dos combustíveis fósseis (MONIKA *et al.*, 2023).

Nos últimos anos, o percentual de biodiesel misturado ao diesel convencional tem aumentado gradativamente. Em 2004, a mistura começou a ser regulamentada, e entre 2005 e 2007, a comercialização do biodiesel passou a ser voluntária, com um teor inicial de 2% (B2). Desde então, o Brasil avançou de forma contínua, atingindo recentemente a marca do B14, ou seja, 14% de biodiesel misturado ao diesel. Embora esse aumento pareça pequeno, ele representa um progresso significativo, refletindo um processo longo, mas gradual, de inclusão do biodiesel na matriz energética (Resolução CNPE nº 8/2023).

Espera-se que, nos próximos anos, o percentual de biodiesel no diesel continue a aumentar, consolidando ainda mais a importância desse biocombustível no cenário energético global (ALINE LEAL, 2024).

A grande motivação para a produção de biodiesel está diretamente relacionada à questão do aquecimento global, causado em grande parte pelo uso excessivo de combustíveis fósseis. O aumento das emissões de gases de efeito estufa, como o dióxido de carbono CO₂, provenientes da queima de combustíveis fósseis, tem acelerado o aquecimento global e contribuído para mudanças climáticas severas (OGUNKUNLE; AHMED, 2021).

Há bastante tempo, governos e organizações internacionais têm debatido formas de mitigar os impactos ambientais e promover um desenvolvimento mais sustentável. Uma das soluções identificadas para reduzir a dependência de combustíveis fósseis e, consequentemente, diminuir as emissões de gases de efeito estufa, é a transição para fontes de energia alternativas e

renováveis (HASSAN *et al.*, 2024).

Entre essas fontes, destacam-se a energia solar, a energia eólica, a energia hidráulica e, especificamente para o setor de transportes, o biodiesel. O biodiesel surge como uma alternativa promissora, principalmente devido à sua capacidade de ser utilizado em motores de combustão interna, como substituto direto ou misturado ao diesel convencional.

Além de ser renovável, o biodiesel possui um ciclo de carbono neutro, o que significa que o CO₂ liberado durante sua combustão é compensado pelo CO₂ absorvido pelas plantas utilizadas em sua produção. O biodiesel é um éster, um tipo de composto orgânico que resulta da reação de um ácido com um álcool. Esse combustível renovável é produzido principalmente a partir de óleos vegetais ou gorduras animais, ambos provenientes de fontes naturais renováveis. As matérias-primas vegetais mais comuns para a produção de biodiesel incluem sementes de girassol, pinhão-mansão, algodão, soja, dendê, castanha, pequi, buriti, amendoim, gergelim, colza, canola, babaçu, linhaça, mamona, entre outras oleaginosas. Além disso, o biodiesel também pode ser produzido a partir de óleos vegetais que já foram utilizados em frituras, o que agrega uma dimensão sustentável ao processo, ao reaproveitar resíduos. O processo de produção do biodiesel envolve a transformação dos óleos vegetais ou gorduras animais em ésteres por meio de uma reação química conhecida como transesterificação. Neste processo, o óleo ou gordura é filtrado para remover impurezas e ácidos graxos livres, e então é misturado com 10 a 15% de um álcool, que pode ser etílico (etanol), metílico (metanol) ou outros. A reação é catalisada por uma base forte, como hidróxido de sódio (NaOH) ou hidróxido de potássio (KOH). Durante a transesterificação, as moléculas dos triglicerídeos presentes no óleo ou gordura são convertidas em ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol (glicerina) como subproduto. O biodiesel resultante pode ser usado diretamente em motores a diesel ou misturado com diesel convencional, oferecendo uma alternativa mais ecológica aos combustíveis fósseis tradicionais (VECCHIA, 2010).

As lipases são um dos biocatalisadores mais amplamente utilizados na síntese orgânica devido à sua versatilidade e eficiência. Essas enzimas desempenham um papel crucial na catálise de diversas reações químicas, tanto em processos biológicos quanto em aplicações industriais, essas enzimas podem catalisar reações de esterificação e transesterificação. Essas reações são fundamentais na síntese de vários compostos orgânicos (ADAK *et al.*, 2015; KAZLAUSKAS, 2005; SHARMA *et al.*, 2011).

Em 1994 se iniciou a comercialização da Lipolase (TLL) pela Novo Nordisk, prove-

niente a partir do fungo *Thermomyces lanuginosus*. O desenvolvimento e a comercialização da Lipolase representaram um passo importante na biotecnologia industrial, mostrando o potencial das lipases como biocatalisadores em grande escala. O uso dessas enzimas não se limitou apenas ao setor de detergentes; elas também abriram caminho para aplicações em outras indústrias, incluindo a produção de biodiesel e a síntese de compostos químicos de valor agregado, como ésteres e amidas, devido à sua capacidade de catalisar reações de hidrólise e transesterificação (HASSAN, 2024).

Biodiesel também reduz efeito estufa emissões de gases com base no ciclo de vida. Isto ocorre porque o dióxido de carbono liberado durante a combustão é compensado pelo dióxido de carbono sequestrado enquanto cultivando as matérias primas que são usadas para produzir o combustível BIODIESEL BASICS (2017).

As nanopartículas magnéticas de ferro têm sido exploradas como suporte para a imobilização de catalisadores em processos de produção de biodiesel. Essas nanopartículas desempenham um papel essencial ao fornecer uma superfície estável e de alta área superficial para a fixação de catalisadores, como lipases ou catalisadores químicos. Além de melhorar a atividade catalítica, o uso de nanopartículas magnéticas permite uma fácil separação do catalisador após a reação, utilizando um campo magnético, o que aumenta a eficiência e sustentabilidade do processo. Estudos como o de (CAMINHA *et al.*, 2019) demonstraram que a imobilização de lipases em nanopartículas magnéticas de ferro aumenta significativamente a eficiência da transesterificação de óleos residuais em biodiesel. A alta área superficial das nanopartículas proporciona uma interação eficiente entre o substrato (óleos vegetais) e o catalisador, resultando em uma conversão mais rápida e completa dos triglicerídeos em ésteres.

É fundamental que tenhamos uma consciência ambiental sólida e um compromisso inabalável com a redução da pegada de carbono. Nossa geração enfrenta o desafio de criar soluções que garantam um futuro mais sustentável para as comunidades em que vivemos e para o planeta como um todo. A contribuição para um futuro melhor envolve a busca contínua por inovações e práticas que minimizem os impactos ambientais das nossas atividades, especialmente no setor energético.

O biodiesel tem se destacado como um pilar essencial na diversificação energética, oferecendo uma alternativa sustentável e viável aos combustíveis fósseis. Sua produção e utilização não apenas contribuem para a redução das emissões de gases de efeito estufa, mas

também promovem o desenvolvimento de uma economia circular, onde resíduos, como o óleo de cozinha usado, podem ser transformados em recursos valiosos. (TULASHIE et al., 2024).

Além disso, o biodiesel fortalece a biodiversidade energética ao permitir uma maior autonomia e segurança energética, diversificando as fontes de energia e diminuindo a dependência de combustíveis fósseis importados. Essa diversificação é crucial tanto para a sustentabilidade ambiental quanto para a resiliência econômica. Como futuros líderes em engenharia e pesquisa, temos a responsabilidade de continuar explorando e aperfeiçoando tecnologias como o biodiesel. Ao fazê-lo, podemos garantir que nossas soluções sejam não apenas tecnicamente eficientes, mas também ambientalmente responsáveis e socialmente justas, contribuindo para um futuro que seja melhor que o passado e o presente.

1.1 OBJETIVO GERAL

O principal objetivo deste trabalho é produzir esteres (biodiesel) usando a rota enzimática e tendo como biocatalisador a enzima TLL, como matéria prima temos o óleo usado em frituras e assim observar o seu resultado.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisar a literatura no que concerne a produção de biodiesel e seus aspectos mais pertinentes nas sociedades atuais;
- Estudar a modificação da superfície das nanopartículas magnéticas de ferro com 3-aminopropil-triethoxysilane (APTES) e glutaraldeído (GLU) para posterior imobilização de Enzimas;
- Imobilizar as enzimas em nanoestruturas magnéticas por ligação covalente;
- Realizar reações de esterificação com etanol e metanol, na presença da enzima TLL, e nanopartículas magnéticas;
- Fazer estudo do reuso do biocatalisador através de números de ciclos consecutivos.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Governos de todo mundo têm criado políticas para incentivar à produção de biodiesel. A COP27, realizada no Egito em 2022, ressaltou a importância da transição energética global para combater as mudanças climáticas. As principais economias do mundo se comprometeram a atingir a neutralidade de carbono até 2050, incentivando o uso de energia renovável e tecnologias limpas. A conferência destacou a necessidade de ações coordenadas para impulsionar o crescimento econômico, reduzir as emissões de gases do efeito estufa e garantir um futuro sustentável através da inovação e cooperação internacional (BASHIR *et al.*, 2024).

No Brasil, o senado aprovou incentivos fiscais para um período de 20 anos para a produção de biocombustíveis isto é biodiesel, etanol e biogás. Medida essa que visa promover a redução do uso excessivo de combustíveis provenientes de fontes fósseis (CHRISTIAN, 2022).

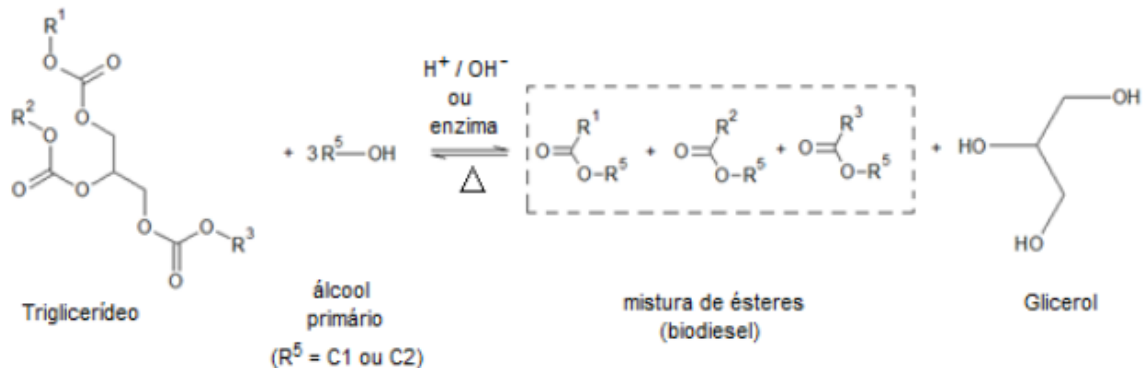
2.1 BIODIESEL

O biodiesel é uma mistura de ésteres de ácidos graxos com mono-alcoóis de cadeia curta, como o metanol ou o etanol produzido a partir da transesterificação, onde os triglicerídeos nos óleos e gorduras animais reagem com um álcool primário (metanol ou etanol) resultando em dois produtos: éster e glicerina o primeiro sendo comercializado como biodiesel após passar por diversos processos de purificação, sendo a sua principal aplicação a motores de ciclo Diesel (Suarez e cols., 2007).

Segundo a ANP biodiesel é um combustível composto de alquil ésteres de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação ou esterificação de materiais graxos, de origem vegetal ou animal (UBRABIO, 2024).

A produção de biodiesel através do processo de transesterificação é feita através de três reações consecutivas e reversíveis, onde são formados di-emo- acilglicerídeos (ver figura) como catalisadores geralmente na reação de transesterificação são usados as bases e ácidos de Bronsted como os hidróxidos e alcóxidos de sódio e potássio e os ácidos sulfúricos e clorídrico (Suarez e cols., 2007).

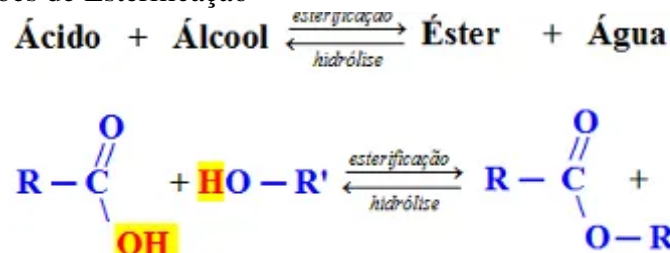
Figura 1 – Reação de síntese do biodiesel por Esterificação



Fonte: Costa e Rossi (2000).

A esterificação é uma reação química crucial na produção de biodiesel, especialmente para matérias-primas que contêm elevados teores de ácidos graxos livres (AGLs). Durante a esterificação, os ácidos graxos livres reagem com um álcool (como metanol ou etanol) na presença de um catalisador, formando ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e água como subproduto. Este processo é particularmente importante para evitar a formação de sabões que ocorre quando os AGLs reagem com catalisadores básicos, o que prejudica a eficiência do processo de produção de biodiesel (ENCINAR *et al.*, 2007). Aqui, o ácido graxo (R-COOH) reage com um álcool (ROH, como o metanol ou etanol), formando um éster (R-COOR) e água como subproduto. A presença de um catalisador ácido, como ácido sulfúrico (H₂SO₄) ou ácido clorídrico (HCl), é essencial para acelerar a reação e garantir uma alta taxa de conversão, como mostra a equação abaixo (MEHER *et al.*, 2006).

Figura 2 – Reações de Esterificação



Fonte: Prepara Enem (2024).

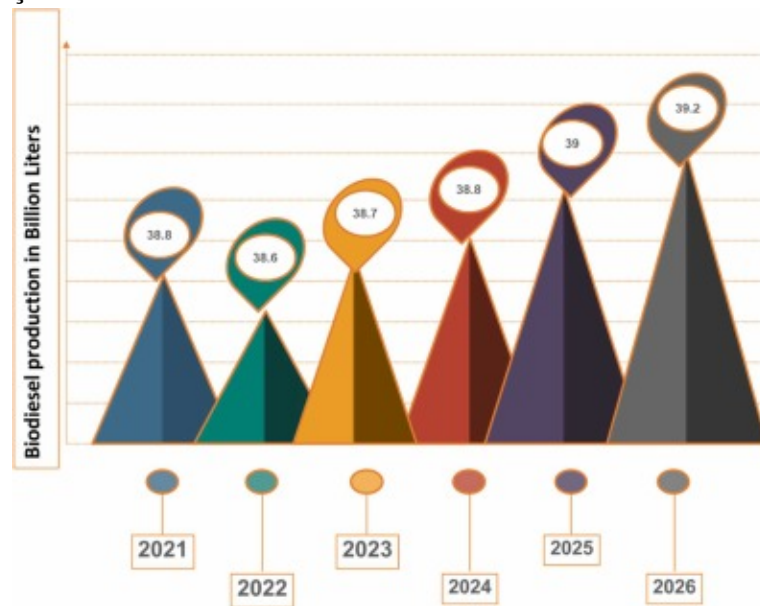
Na indústria, a transesterificação pode ser implementada por meio de dois tipos de processos: contínuos ou em bateladas. No processo em batelada, a operação ocorre em etapas. Inicialmente, o óleo é carregado no reator, seguido pela adição do álcool e do catalisador. A mistura é, então, agitada e aquecida até que a reação de transesterificação esteja completa. A duração e os parâmetros operacionais, como temperatura e tempo de reação, dependem da

qualidade da matéria-prima (óleo ou gordura), do tipo de álcool (geralmente metanol ou etanol) e do catalisador (que pode ser um catalisador ácido, básico ou enzimático) (CLEMENTS et al., 2004).

2.1.1 BIODIEEL NA MATRIZ ENERGÉTICA

Na figura a baixo mostra o crescimento do mercado global do biodiesel onde podemos ver projeções a partir de 2021 até 2026. Estados Unidos, Canadá, Brasil, Indonésia e Índia (Martin-Valmayor et al., 2023). Esses países contribuem coletivamente 80% na adoção global de biocombustíveis na matriz energética do mundo. Na Europa ainda não existe um grande volume de biocombustíveis isso porque há ainda regulamentações rigorosas a nível estadual. O biodiesel em proporção global na utilização de combustível de transporte se vê um aumento de 4,3% para 5,4% nos anos 2022 a 2027 (CHILAKAMARRY *et al.*, 2023).

Figura 3 – Produção de Biodiesel em litros



Fonte: Chilakamarry *et al.* (2023).

No Brasil, o biodiesel já desempenha um papel importante na matriz energética, apresentando números significativos, embora ainda existam desafios a serem superados. De acordo com dados de eficiência energética de biocombustíveis, o biodiesel possui uma média de eficiência de 68,70%, o que o coloca em uma posição de destaque, ficando apenas abaixo do biometano nesse quesito. Essa alta eficiência reflete o potencial do biodiesel como uma alternativa viável e sustentável para o uso em motores de combustão interna, especialmente em

substituição parcial ao diesel derivado de fontes fósseis. Em relação ao volume elegível por biocombustível, o biodiesel responde por 39,92%, um percentual relativamente baixo quando comparado com outros biocombustíveis, como o etanol. Esse número reflete, em parte, os desafios relacionados à escala de produção e à demanda no mercado de transportes. Contudo, o biodiesel tem mostrado crescimento consistente nos últimos anos, com políticas de incentivo como o aumento progressivo da mistura obrigatória de biodiesel no diesel, que chegou ao B14. Esses dados destacam tanto a importância do biodiesel na matriz energética brasileira quanto as oportunidades de expansão e aprimoramento da sua produção, a fim de fortalecer seu papel no cenário de biocombustíveis e energias renováveis no país (ANP, 2024).

Segundo a revista *Statistical Review of World Energy* a produção global de biocombustíveis cresceu mais de 8% em 2023 sendo os Estados Unidos e Brasil liderando o grupo. A divisão da produção foi de 54% de biogasolina e 46% de biodiesel. O Brasil teve um aumento significativo na produção dos biocombustíveis em 2023 em relação ao ano anterior, isto é, saindo de 390 para 455 Mil barris de petróleo equivalente por dia, em 2023 ano que foi feito o estudo. Números esses que representam um crescimento de 16.6% no ano de 2023. Podemos observar esses dados expressos abaixo.

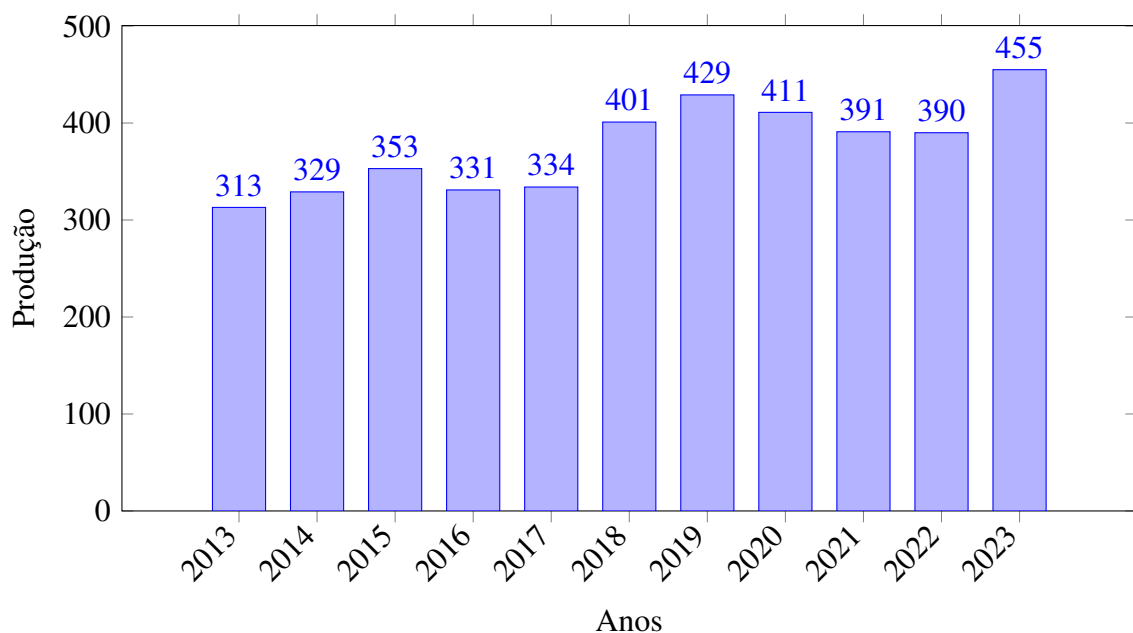


Figura 4 – Produção de Biocombustíveis

2.1.2 BIODIESEL NA MATRIZ ENERGETICA NACIONAL BRASILEIRA

O biodiesel desempenha um papel significativo na matriz energética brasileira e os números podem confirmar isso falando da sua produção e consumo, contribuindo para a diversificação das fontes de energia e a redução das emissões de gases de efeito estufa.

O Brasil possui uma matriz energética composta por aproximadamente 46,1% de fontes renováveis, uma das mais limpas do mundo. O biodiesel, produzido a partir de óleos vegetais, é uma alternativa ao diesel convencional e tem sido cada vez mais integrado à matriz veicular (PARADA *et al.*, 2012) Em 2023, a produção nacional de biodiesel alcançou mais de 7,5 bilhões de litros, impulsionada pela elevação do percentual de mistura obrigatória ao diesel para 12% (AGENCIAGOV, 2024).

O Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), lançado em 2004, foi fundamental para institucionalizar a produção e comercialização do biodiesel no Brasil. O programa visa promover a inclusão social e o desenvolvimento regional, estabelecendo um arcabouço legal e regulatório que favorece a agricultura familiar e a sustentabilidade (ENERGIA, 2024). Apesar do crescimento do setor, ainda existem desafios significativos. A substituição do diesel convencional pelo biodiesel enfrenta barreiras relacionadas à aceitação do mercado e à necessidade de infraestrutura adequada. No entanto, o aumento da demanda por biocombustíveis e as políticas públicas voltadas para a sustentabilidade oferecem oportunidades para expandir o uso do biodiesel (NASCIMENTO *et al.*, 2022)

Para o biodiesel sua produção teve um aumento de 20.4 em relação ao ano de 2022 onde foi de 93 para 112 isso só no Brasil. Na figura abaixo mostra o histórico de produção desse biocombustível no Brasil.

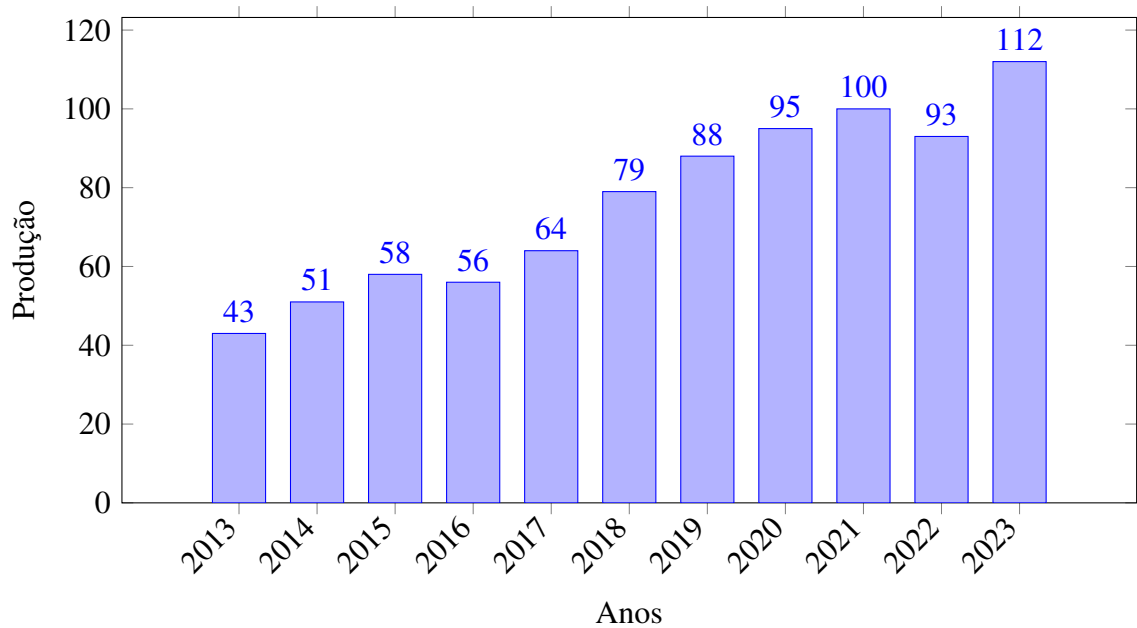


Figura 5 – Histograma de Produção de biodiesel por Ano

2.2 PROCESSOS DE PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Existem diferentes processos utilizados para a produção de biodiesel, entre os quais se destacam a rota química e a rota enzimática. Na rota química, catalisadores ácidos ou básicos são usados para acelerar a reação de transesterificação, que converte óleos e gorduras em biodiesel. Já na rota enzimática, as enzimas, como as lipases, são utilizadas como catalisadores biológicos, oferecendo vantagens como maior seletividade, menor geração de subprodutos indesejados e condições de reação mais brandas, embora essa rota ainda tenha desafios em termos de custo e escala industrial (GUPTA *et al.*, 2013).

2.2.1 Propriedades e Qualidade do Biodiesel

O biodiesel é um biocombustível que apresenta diversas propriedades e qualidades que o tornam uma alternativa viável aos combustíveis fósseis.

O biodiesel é composto por ésteres de ácidos graxos, resultantes da transesterificação de óleos vegetais ou gorduras animais. Essa composição química confere ao biodiesel propriedades que o diferenciam dos combustíveis fósseis, como a ausência de enxofre e compostos aromáticos (SOUZA *et al.*, 2008a).

A viscosidade do biodiesel é geralmente maior do que a do diesel convencional, variando entre 4,0 mm²/s e 6,0 mm²/s, dependendo da sua origem. A densidade do biodiesel varia de 0,820 a 0,880 g/cm³. Essas propriedades são importantes para o funcionamento adequado dos motores diesel, pois influenciam a circulação e injeção do combustível (BIODIESELBR, 2011).

O ponto de fulgor do biodiesel varia entre 112°C e 122°C, o que indica uma maior segurança no transporte e manuseio em comparação ao diesel convencional, que possui um ponto de fulgor mais baixo. Essa característica é crucial para evitar riscos de ignição acidental (BIODIESELBR, 2011).

O número de cetano (CN) do biodiesel é geralmente superior a 60, em comparação ao diesel mineral, que varia entre 48 e 52. Um maior número de cetano indica uma melhor combustão no motor diesel, resultando em um desempenho mais eficiente (SOUZA *et al.*, 2008a).

Uma das grandes vantagens do biodiesel é que ele é praticamente isento de enxofre, reduzindo significativamente as emissões de SO_x durante a combustão. Isso contribui para uma melhoria na qualidade do ar e diminui os impactos ambientais associados à poluição atmosférica (ZUNIGA, 2012).

O poder calorífico do biodiesel é próximo ao do diesel mineral, com uma diferença média de apenas 5%. Isso significa que o biodiesel pode ser utilizado como uma alternativa eficaz sem comprometer significativamente a eficiência energética dos motores (ZUNIGA, 2012).

Além das propriedades físico-químicas, o biodiesel apresenta qualidades ambientais significativas:

Biodegradabilidade: O biodiesel é biodegradável e menos tóxico em comparação aos combustíveis fósseis, o que minimiza os riscos ambientais em caso de vazamentos.

Redução da Poluição: A utilização do biodiesel contribui para a redução das emissões de gases de efeito estufa e outros poluentes atmosféricos (CRUZ *et al.*, 2022)

Essas propriedades e qualidades fazem do biodiesel uma opção atrativa dentro da matriz energé-

tica atual, promovendo não apenas eficiência energética mas também sustentabilidade ambiental.

Tabela 1 – Características e Métodos

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	LIMITE	MÉTODO (1)	
			ABNT NBR	ASTM/EN/ISO
Aspecto		Límpido e isento de impurezas, com anotação da temperatura de ensaio		Visual
Cor (2)		Vermelho (3)(4)		Visual
Cor ASTM, máx.	3		14483	D6045, D1500
Massa Específica (20°C) (5)	kg/m ³	817,8 a 865,0 (S10) 817,8 a 875,5 (S500)	7148, 14065, 15983	D1298, D4052, D7042
Viscosidade a 40°C (6)	mm ² /s	2,0 a 5,0 (S500) 2,0 a 5,0 (S1800)	10441, 15983	D445, D7279, D7042
Teor de Biodiesel, % vol.	% vol. (7)		15568	EN14078, D7861, D7371 (8)
Enxofre, máx.	mg/kg	10 (S10) 500 (S500) 1800 (S1800 não rodoviário)		D5453, D2622, D7039, D7220 (8)
Destilação / 10% vol, mín. (9)	°C	180	9619 (8)	D86 (8), D1160
Destilação / 50% vol. (9)	°C	245,0 a 295,0 (S10) 245,0 a 310,0 (S500)		
Destilação / 85% vol. (9)		Anotar		
Destilação / 90% vol. (9)		Anotar		
Destilação / 95% vol. (9)		Anotar		
Ponto de fulgor, mín.	°C	38	7974, 14598	D56, D93, D3828
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.	°C (10)		14747	D6371
Resíduo de Carbono - 10% amostra, máx.	% massa	0,25	14318	D524
Cinzas, máx.	% massa	0,01	9842	D482
Corrosividade ao cobre		1	14359	D130
Teor de água, máx.	mg/kg	200 (S10) 500 (S500)		D6304, EN ISO 12937
Água e sedimentos, máx.	% vol.	- (S10) 0,05 (S500)		D2709
Estabilidade à Oxidação	h	Anotar		EN 15751
Contaminação total, máx.	mg/kg	24	Anotar	EN12662
Número de Acidez, máx.	mg KOH/g	0,3	14248	D664
Condutividade elétrica, mín. (11)	pS/m	25	Anotar (12)	D2624, D4308
Número de cetano ou número de cetano derivado (NCD), mín.		48 (S10) 46 (S500) 42 (S1800)		D613, D6890, D7170, D7668

2.2.2 Propriedades congelantes do Biodiesel

As propriedades congelantes do biodiesel são fundamentais para sua utilização em climas frios, onde a solidificação do combustível pode afetar o desempenho do motor e a eficiência do sistema de injeção.

O ponto de névoa (cloud point) é a temperatura na qual o biodiesel começa a apresentar turbidez devido à formação de cristais, enquanto o ponto de fluidez (pour point) é a temperatura abaixo da qual o biodiesel não flui livremente. Essas propriedades são cruciais para determinar a viabilidade do uso do biodiesel em condições de frio. O ponto de névoa e o ponto de fluidez variam conforme a matéria-prima utilizada na produção do biodiesel, sendo que óleos ricos em ácidos graxos saturados tendem a ter pontos de congelamento mais altos (BIODIESELBR, 2011).

A viscosidade do biodiesel aumenta à medida que a temperatura diminui, o que pode levar ao entupimento das tubulações e filtros durante o uso em temperaturas baixas. A viscosidade é uma propriedade importante que afeta o escoamento do combustível e seu desempenho em motores diesel. A presença de cristais formados em baixas temperaturas pode dificultar o fluxo e causar problemas operacionais (BIODIESELBR, 2011).

A composição química do biodiesel, especialmente a proporção de ácidos graxos saturados e insaturados, influencia suas propriedades congelantes. Por exemplo, biodiesel produzido a partir de sebo bovino, que contém uma maior proporção de ácidos graxos saturados, tende a solidificar mais facilmente em temperaturas frias. Estudos mostram que aditivos como triacetina podem ser utilizados para melhorar as propriedades de escoamento a frio do biodiesel (BIODIESELBR, 2011).

Para garantir um desempenho adequado do biodiesel em climas frios, é essencial considerar as propriedades congelantes durante sua produção e armazenamento. A escolha da matéria-prima e o uso de aditivos apropriados podem ajudar a minimizar os problemas associados à solidificação.

Tabela 2 – Limite Máximo de Temperatura por Unidade da Federação (em °C)

UNIDADES DA FEDERAÇÃO	JAN	FEV	MAR	ABR	MAI	JUN	JUL	AGO	SET	OUT	NOV	DEZ
SP - MG - MS	12	12	12	7	3	3	3	3	7	9	9	12
GO/DF - MT - ES - RJ	12	12	12	10	5	5	5	8	8	10	12	12
PR - SC - RS	10	10	7	7	0	0	0	0	0	7	7	10

2.3 BIOMASSA

A produção de biodiesel no Brasil é sustentada por uma ampla variedade de biomassa, que inclui tanto oleaginosas quanto gorduras animais. Essa diversidade de matérias-primas é fundamental para a sustentabilidade e a eficiência do setor.

O Brasil possui um grande potencial para a produção de biodiesel a partir de oleaginosas. As principais culturas utilizadas incluem Soja, Mamona, Girassol, Dendê e Algodão. A soja é a principal fonte de óleo vegetal para biodiesel no Brasil, representando uma parte significativa da produção nacional. Mamona, esta planta é valorizada por seu alto teor de óleo e resistência a condições adversas, sendo uma opção viável em várias regiões. Girassol, com um ciclo de cultivo rápido e boa adaptação a diferentes solos, o girassol é outra oleaginosa promissora. Dendê o óleo de palma é uma fonte rica em lipídios e tem sido explorado para aumentar a produção de biodiesel. Algodão, além da fibra, o óleo extraído das sementes de algodão é utilizado na produção de biodiesel (SOUZA *et al.*, 2008b)

As gorduras animais também desempenham um papel importante na produção de biodiesel. O sebo bovino e outras gorduras residuais são utilizados como matéria-prima, contribuindo para a sustentabilidade ao aproveitar subprodutos da indústria alimentícia. A utilização dessas gorduras ajuda a diversificar as fontes de biomassa e a reduzir desperdícios (AGENCIAGOV, 2024)

2.3.1 Óleos residuais de fritura

Uma fonte crescente e sustentável de biomassa para biodiesel é o óleo de cozinha usado. Seu reaproveitamento ajuda a evitar o descarte inadequado no meio ambiente e amplia a produção de biodiesel sem a necessidade de novas plantações, o descarte inadequado desses produtos também vem sendo uma causa de preocupação pois existe um elevado potencial a contaminação de rios e solos, podendo causar problemas ambientais, sociais e econômicos. Segundo Da Silva *et al.*, (2017), no Brasil cerca de 2% do óleo de fritura usado é coletado, ou seja, 98% desse material é descartado irregularmente no esgoto.

Diversas entidades governamentais, em parceria com empresas privadas, estão se mobilizando para promover programas de coleta de óleo de fritura usado pela população brasileira. De acordo com a União Brasileira de Biodiesel e Bioquerosene (Ubrabio, 2018), o aumento na coleta de óleo residual não apenas contribuirá para a geração de novos empregos, mas também

para a regularização do setor de materiais recicláveis.

Os óleos residuais de fritura são coletados de restaurantes, lanchonetes e indústrias alimentícias. Antes da transesterificação, é necessário realizar um pré-tratamento, que geralmente envolve: Filtragem para remover partículas sólidas e impurezas. Decantação para eliminar a água e outros contaminantes. Esses passos são fundamentais para garantir a qualidade do biodiesel produzido, pois impurezas podem afetar a eficiência do processo químico (MENDOÇA *et al.*, 2008). A transesterificação é o processo químico central na produção de biodiesel, neste processo O óleo residual é misturado com um álcool (geralmente metanol ou etanol) e um catalisador (hidróxido de sódio ou potássio). A reação ocorre em um reator sob agitação e aquecimento controlado. Após a transesterificação, ocorre a separação das fases entre o biodiesel e a glicerina. O biodiesel flutua na parte superior devido à sua menor densidade (MENDOÇA *et al.*, 2008). A partir dos resultados dos testes químicos mostrados na Tabela , foi descoberto que o WCO é composto principalmente de ácido oleico (43,67%), ácido palmítico (38,35%) seguido de ácido linoleico (11,39%) (RASMAN *et al.*, 2018).

Tabela 3 – Composição Química do Óleo de Cozinha Usado

Ácido graxo	Óleo de cozinha usado (%)
Ácido oleico	43,67
Ácido palmítico	38,35
Ácido linoleico	11,39
Ácido esteárico	4,33
Ácido mirístico	1,03
Ácido -linoleico	0,37
Ácido láurico	0,34
Ácido linolênico	0,29
Cis-11 Ácido eicosenóico	0,16
Ácido heneicosanóico	0,08
TOTAL	100

Fonte: (RASMAN *et al.*, 2018).

A reutilização de óleo residual de fritura na produção de biocombustíveis para a matriz energética brasileira oferece diversos benefícios. Além de proporcionar um descarte adequado, evitando impactos ambientais negativos, também contribui para o aumento da produção e a maior utilização de biodiesel no país (SANTOS; SILVA, 2016).

Figura 6 – Oléo residual de fritura



Waste cooking oil (WCO)

Fonte: Osman *et al.* (2024). adaptado

2.4 ENZIMAS

As enzimas são proteínas biológicas que atuam como catalisadores naturais, acelerando reações químicas sem serem consumidas no processo. Elas desempenham um papel essencial em quase todos os processos biológicos, facilitando reações que, de outra forma, ocorreriam de maneira muito lenta. As enzimas possuem especificidade por seus substratos, ligando-se a eles de forma precisa e promovendo a transformação química desejada. Existem várias classes de enzimas, como oxidoredutases, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases, cada uma com funções específicas nas reações metabólicas (HASAN *et al.*, 2006).

A maioria das enzimas são proteínas que servem como catalizadores para diversos processos vitais do ser biológico. A etapa inicial do processo metabólico depende das enzimas, que interagem com uma molécula conhecida como substrato. As enzimas transformam os substratos em outras moléculas diferentes, chamadas de produtos (BYJU'S, 2020).

As enzimas são altamente específicas para seus substratos devido ao seu sítio ativo, uma região tridimensional na superfície da enzima onde ocorre a ligação com o substrato. Essa especificidade é frequentemente explicada pelo modelo de "chave-fechadura", no qual o substrato se encaixa perfeitamente no sítio ativo da enzima. Uma vez que o substrato se liga à enzima,

ocorre uma mudança conformacional que facilita a reação química, transformando o substrato nos produtos (NELSON; COX, 2017)

colocar figura de enzima

Além disso, as condições ambientais, como temperatura e pH, influenciam diretamente a atividade enzimática. Cada enzima tem uma faixa de temperatura e pH ideal na qual sua eficiência catalítica é máxima. Fora dessas condições, as enzimas podem se desnaturar, perdendo sua estrutura tridimensional e, conseqüentemente, sua função. Por isso, o controle das condições celulares é fundamental para que as enzimas desempenhem suas funções adequadamente (CAMPBELL; FARRELL, 2014).

2.4.1 Catalisadores Enzimáticos

Catalizadores enzimáticos também chamados de catalizadores biológicos são substâncias que têm a função de aumentar a velocidade de reação de um processo químico biológico sem serem consumidas no processo. As enzimas, que são proteínas especializadas, atuam como catalisadores em quase todas as reações metabólicas dos organismos vivos. A ação catalítica das enzimas é essencial para a manutenção da vida, pois permite que o metabolismo celular funcione com a eficiência necessária (BERG *et al.*, 2015).

Segundo (PURICH, 2001) enzimas catalisam a formação e/ou quebra de ligações químicas promovendo acesso de substrato e/ou produto ao estado de transição.

Os catalisadores enzimáticos também apresentam a capacidade de reduzir a energia de ativação necessária para que uma reação ocorra. A energia de ativação é a quantidade mínima de energia que deve ser fornecida aos reagentes para que a reação se inicie. As enzimas facilitam a formação de um estado de transição menos energético, o que acelera a conversão dos substratos em produtos. Esse processo é vital para manter as reações químicas dentro das células em uma taxa compatível com os requisitos metabólicos dos organismos (ALBERTS *et al.*, 2015).

2.4.2 Lipases

As lipases têm sido amplamente estudadas e aplicadas na produção de biocombustíveis, particularmente no processo de transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais para a produção de biodiesel. A transesterificação é o processo químico pelo qual triglicerídeos são convertidos em ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES - Fatty Acid Methyl Esters), que

constituem o biodiesel, e glicerol como subproduto. Tradicionalmente, esse processo é catalisado por álcalis ou ácidos químicos. No entanto, o uso de lipases como catalisadores biológicos oferece várias vantagens, especialmente em termos de sustentabilidade ambiental e eficiência (HASAN *et al.*, 2006)

As lipases catalisam a reação de transesterificação de maneira mais limpa e eficiente, eliminando a necessidade de altas temperaturas e de produtos químicos corrosivos, que são comumente usados em métodos convencionais. Além disso, as lipases vêm sendo os biocatalisadores mais utilizados em síntese orgânica, elas são capazes de processar uma ampla variedade de matérias-primas, incluindo óleos vegetais de baixa qualidade e resíduos de gordura animal, tornando a produção de biodiesel mais econômica e ecologicamente sustentável (GUPTA *et al.*, 2013).

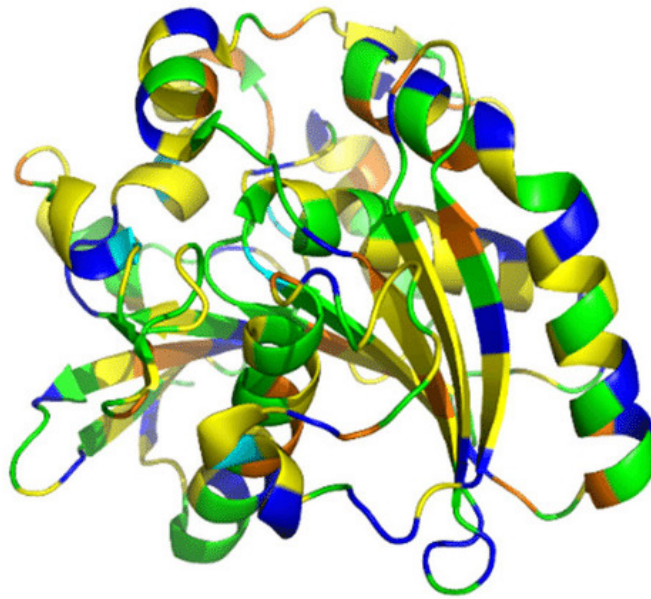
O processo de transesterificação por lipases ocorre em três etapas: inicialmente, a lipase catalisa a hidrólise do triglicerídeo, liberando ácidos graxos livres e glicerol. Em seguida, os ácidos graxos livres são esterificados na presença de álcool (geralmente metanol ou etanol), formando os ésteres metílicos (biodiesel). A vantagem das lipases é que elas podem catalisar tanto a transesterificação quanto a esterificação, o que as torna ideais para lidar com matérias-primas que contêm altos níveis de ácidos graxos livres, como óleos residuais (HASAN *et al.*, 2006).

Um dos desafios no uso de lipases para a produção de biodiesel é o custo das enzimas. No entanto, avanços na biotecnologia têm permitido o desenvolvimento de lipases imobilizadas, que podem ser reutilizadas várias vezes sem perda significativa de atividade catalítica, tornando o processo mais viável economicamente. Essas lipases imobilizadas são fixadas em suportes sólidos, o que facilita sua separação do meio reacional ao final do processo e permite sua reutilização em ciclos sucessivos de produção (GUPTA *et al.*, 2013).

2.4.2.1 Enzima TLL (*Thermomyces lanuginosus* lipase)

A *Thermomyces lanuginosus* lipase (TLL) é uma enzima lipolítica amplamente utilizada devido à sua alta estabilidade térmica e capacidade de catalisar reações de hidrólise e transesterificação. Ela é derivada do fungo *Thermomyces lanuginosus*, sendo uma das lipases mais estudadas e aplicadas em processos industriais. A TLL exibe uma preferência por ácidos graxos de cadeia longa, o que a torna ideal para a degradação de triglicerídeos encontrados em óleos e gorduras (GUPTA *et al.*, 2013).

Figura 7 – Enzima TLL (*Thermomyces lanuginosus* lipase)



Fonte: Carvalho *et al.* (2021).

Essa enzima é um polipeptídeo composto por 269 aminoácidos, dobrado na forma de is-hidrolase com conformação globular ($35 \times 45 \times 50$ de diâmetro). Seu sítio ativo é coberto por uma "tampa" que regula sua atividade catalítica quando em contato com uma superfície hidrofóbica (BERNAL *et al.*, 2018).

A TLL possui uma estrutura terciária típica de lipases, com um "tampão" que cobre o sítio ativo da enzima. Esse tampão se desloca quando a enzima entra em contato com uma interface lipídica, permitindo que o substrato acesse o sítio ativo. Essa característica, conhecida como "catálise interfacial", é comum em lipases e garante que a TLL seja altamente eficiente quando em contato com superfícies lipídicas, como gotas de óleo ou membranas celulares (HASAN *et al.*, 2006).

Uma das aplicações mais promissoras da TLL é na produção de biodiesel, onde atua como catalisadora no processo de transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais. A TLL facilita a conversão de triglicerídeos em ésteres metílicos de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol, sem a necessidade de condições extremas de temperatura ou produtos químicos agressivos. Sua utilização em processos de biodiesel oferece uma solução mais ecológica em comparação com catalisadores químicos, que frequentemente geram resíduos tóxicos (GUPTA *et al.*, 2013).

Uma das principais vantagens da TLL é sua estabilidade térmica e alta atividade

catalítica em uma ampla faixa de temperaturas e pH. Essas características a tornam uma enzima versátil, especialmente em processos industriais que requerem temperaturas elevadas ou condições ambientais adversas. Além disso, a TLL é uma enzima facilmente purificável e disponível comercialmente, o que facilita sua aplicação em larga escala. No entanto, como muitas lipases, a TLL também apresenta algumas limitações. Uma delas é a desativação por álcoois, como o metanol, que é comumente utilizado na produção de biodiesel. A presença de altos níveis de metanol pode inibir a atividade da TLL, o que limita sua eficiência em processos de transesterificação. Pesquisas recentes têm focado no desenvolvimento de variantes da TLL que sejam mais resistentes à inibição por álcoois e outras condições adversas (CAMINHA *et al.*, 2019).

2.4.3 Imobilização enzimática

A imobilização enzimática (IE) é definida como o processo em que uma enzima solúvel é confinada em um suporte, tornando-a insolúvel e reutilizável, preservando sua alta atividade catalítica e conferindo maior estabilidade frente a condições ambientais adversas, como solventes não aquosos, temperaturas elevadas e pH extremos (CAO, 2005). Existem diversas estratégias para a imobilização enzimática, que podem ser ajustadas conforme a enzima alvo e levando em consideração sua aplicação como biocatalisador resultante (BERNAL *et al.*, 2018).

Essa técnica tem sido amplamente adotada na indústria devido à sua capacidade de reduzir os custos operacionais e aumentar a eficiência de processos enzimáticos, como na produção de biocombustíveis, alimentos e detergentes. A imobilização de lipases, como a *Thermomyces lanuginosus lipase* (TLL) e outras, é uma prática comum em diversas indústrias (HASAN *et al.*, 2006).

A imobilização geralmente protege a enzima de fatores ambientais adversos, como variações de pH e temperatura. Isso é especialmente importante em processos industriais que operam em condições extremas. No caso das lipases, a imobilização pode aumentar sua resistência a álcoois, como o metanol, que é comumente utilizado na produção de biodiesel, superando assim uma das limitações das lipases livres (CAMINHA *et al.*, 2019).

Uma das aplicações mais promissoras da imobilização de lipases é na produção de biodiesel. O processo de transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais, que converte triglicerídeos em ésteres metílicos (biodiesel), é catalisado por lipases. A imobilização permite que a lipase seja reutilizada em múltiplos ciclos de produção, tornando o processo mais econômico.

Além disso, lipases imobilizadas são mais resistentes à inibição por álcoois, como o metanol, o que aumenta a eficiência do processo (CAMINHA *et al.*, 2019).

2.4.4 Hidroesterificação

A hidroesterificação é um processo de produção de biodiesel que envolve duas etapas principais: a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos livres, seguida pela esterificação desses ácidos com um álcool, geralmente metanol ou etanol, para formar ésteres. Esse processo se diferencia dos métodos convencionais de transesterificação ao permitir o uso de óleos de baixa qualidade, como óleos residuais ou gorduras animais, que possuem altos teores de ácidos graxos livres (FREIRE; TAVARES, 2019). *Adicionar fluxograma*

O processo de hidroesterificação pode ser dividido em duas fases principais:

2.4.4.1 Reações de Hidrólise

Na primeira etapa, os triglicerídeos presentes nos óleos ou gorduras são hidrolisados (quebrados) em ácidos graxos livres e glicerol por meio de uma reação com água em condições de alta temperatura e pressão. A hidrólise pode ser catalisada por ácidos ou bases, ou pode ocorrer de forma não catalítica sob condições supercríticas. O objetivo dessa fase é obter ácidos graxos livres que possam ser posteriormente convertidos em biodiesel na etapa de esterificação. A vantagem dessa etapa é que ela pode converter eficientemente triglicerídeos de baixa qualidade, que possuem altos teores de ácidos graxos livres, sem a formação de sabões, que é um problema comum na transesterificação alcalina tradicional. Além disso, o glicerol gerado como subproduto é mais puro e pode ser facilmente separado do meio reacional (FREIRE; TAVARES, 2019).

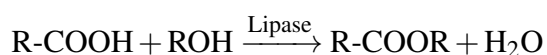
2.4.4.2 Reações de Esterificação

A esterificação é uma das etapas cruciais na produção de biodiesel, particularmente quando se utiliza matéria-prima com altos níveis de ácidos graxos livres (AGLs). Essa reação química envolve a conversão de AGLs em ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e água, utilizando um álcool e um catalisador ácido ou enzimático. A esterificação é especialmente importante quando os óleos usados ou gorduras contêm altos teores de ácidos graxos livres. Em métodos convencionais, como a transesterificação alcalina, esses ácidos reagem com a base para formar sabões, o que reduz o rendimento do biodiesel e dificulta a separação dos produtos. Por

isso, a etapa de esterificação é frequentemente usada como pré-tratamento, convertendo os AGLs em ésteres antes da transesterificação. Estudos mostram que a eficiência da reação de esterificação depende de vários fatores, como a concentração de ácidos graxos livres, a quantidade de catalisador, a razão molar álcool/ácido, e a temperatura. Segundo (FREIRE; TAVARES, 2019), o aumento da razão molar álcool/ácido melhora a conversão de ácidos graxos em ésteres, mas a presença de excesso de álcool pode dificultar a separação posterior do biodiesel e do glicerol.

A esterificação com biocatalizadores, especialmente utilizando lipases, tem se destacado como uma alternativa promissora aos métodos químicos convencionais de produção de biodiesel. As lipases são enzimas que catalisam a conversão de ácidos graxos em ésteres de ácido graxo (biodiesel), utilizando álcoois como metanol ou etanol. Este método oferece vantagens ambientais e operacionais devido à sua alta especificidade, capacidade de operar em condições mais brandas e menor geração de subprodutos indesejados.

A equação geral da reação catalisada por lipases é semelhante à esterificação química:



Neste caso, as lipases atuam como biocatalisadores, acelerando a reação de esterificação sem a necessidade de ácidos fortes, como o ácido sulfúrico, utilizados em métodos convencionais. A catalisação enzimática ocorre em temperaturas mais baixas e em condições menos corrosivas, o que minimiza problemas como a degradação dos equipamentos e a formação de sabões (CAMINHA *et al.*, 2019).

Estudos como o de Santos *et al.* (2015) demonstraram que lipases imobilizadas podem ser reutilizadas por mais de 10 ciclos reacionais, reduzindo o custo de operação e tornando o processo mais sustentável. Isso representa uma grande vantagem econômica, especialmente quando comparado ao uso de catalisadores químicos que não podem ser reutilizados (SANTOS *et al.*, 2015).

A esterificação é uma reação bem estabelecida, e a escolha do catalisador depende das condições de operação e da natureza da matéria-prima. Catalisadores ácidos são comumente usados, pois são eficientes na conversão de ácidos graxos em ésteres mesmo em presença de grandes quantidades de água. No entanto, o uso de lipases como catalisadores enzimáticos tem ganhado força devido às suas vantagens ambientais e à produção de biodiesel de alta pureza sem a geração de subprodutos indesejados (GUPTA *et al.*, 2013).

A hidroesterificação tem sido aplicada com sucesso em diversas indústrias e contextos, principalmente onde há disponibilidade de matérias-primas de baixa qualidade ou onde

a pureza do biodiesel e do glicerol são fatores importantes. Óleos de fritura usados e outras fontes de óleos residuais são difíceis de processar por métodos convencionais devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos livres. A hidroesterificação permite a conversão eficiente dessas matérias-primas em biodiesel de alta qualidade (FREIRE; TAVARES, 2019). Grandes plantas industriais de produção de biodiesel podem se beneficiar da hidroesterificação devido à sua capacidade de operar de forma contínua e com uma maior flexibilidade de matéria-prima.

2.5 NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS DE FERRO

A imobilização de enzimas oferece várias vantagens operacionais em comparação com enzimas solúveis, incluindo o aumento da estabilidade operacional. As técnicas de imobilização, as condições aplicadas durante o processo e o tipo de suporte são fatores importantes a serem considerados. Existem diversos métodos para imobilizar lipases, como adsorção, ligação covalente, aprisionamento, encapsulamento e ligação cruzada. Nos últimos anos, vários tipos de suportes para imobilização de enzimas têm sido investigados, com destaque para as nanopartículas magnéticas (SOUZA, 2012).

A imobilização de catalisadores, como lipases ou catalisadores ácidos, em nanopartículas magnéticas tem sido amplamente estudada como uma estratégia para aumentar a eficiência das reações de transesterificação e esterificação. A imobilização de lipases, por exemplo, permite que a enzima mantenha sua atividade ao longo de vários ciclos reacionais, enquanto o suporte magnético facilita a separação do catalisador da mistura de reação.

A principal vantagem das nanopartículas magnéticas é a facilidade de recuperação do catalisador imobilizado. Um campo magnético externo pode ser aplicado para separar rapidamente as nanopartículas do meio reacional, permitindo sua reutilização em vários ciclos, o que reduz os custos operacionais (WANG *et al.*, 2016).

A imobilização em nanopartículas magnéticas aumenta a estabilidade do catalisador, permitindo que ele seja usado em condições mais severas de temperatura e pH sem perder sua atividade catalítica. Isso é especialmente importante para lipases, que podem ser sensíveis a condições adversas (XIE *et al.*, 2014).

Embora o uso de nanopartículas magnéticas como suporte catalítico traga diversas vantagens, alguns desafios ainda precisam ser superados. As nanopartículas magnéticas tendem a se agregar devido às forças magnéticas e à alta área superficial, o que pode reduzir a eficiência catalítica ao longo do tempo. Métodos de estabilização, como o revestimento das partículas

com polímeros ou a funcionalização com surfactantes, podem ser necessários para evitar essa agregação (XIE *et al.*, 2014).

3 METODOLOGIA

3.1 MATERIAL E MÉTODOS

3.1.1 Materiais

Para este estudo, utilizamos óleo residual de fritura. As amostras foram cedidas pela prefeitura de Acarape, uma cidade localizada no maciço de Baturité, onde está situado um dos campi da UNILAB. O óleo utilizado foi concedido pelo projeto PFORMA, que é uma parceria da prefeitura municipal de Acarape com a UNILAB.

Figura 8 – Localização da Prefeitura de Acarape



Fonte: Google Earth, coordenadas: 4°13'27"S 38°42'15"W.

3.1.2 Nanopartículas magnéticas (NPM)

Com base nos estudos de (BARRETO *et al.*, 2012) utilizamos o método de coprecipitação com adaptações para a produção das Nanopartículas. A lipase usada foi a *Thermomyces lanuginosus*. O g-aminopropiltriethoxisilano (APTES), solução de glutaraldeído grau II 25% (m/v), butirato de *p*-nitrofenila (pNPB) e *p*-nitrofenila (pNP) foram obtidos da Sigma-Aldrich

(São Paulo, Brasil). Os demais reagentes de grau analítico foram obtidos da Distribuidora Cequímica (Fortaleza, Brasil).

3.1.2.1 Síntese de nanopartículas de magnética (NPM)

A síntese de nanopartículas magnéticas foi conduzida conforme descrito por Barreto et al. (2012), com algumas adaptações. Sais metálicos contendo $\text{Fe}_2 + \text{Fe}_3 + (\text{FeSO}_4 \text{ FeCl}_3 \text{ H}_2\text{O})$ foram pesados e dissolvidos em água destilada em um béquer de 500 mL na proporção molar de 1:2, respectivamente. A solução foi ajustada para pH 3 utilizando HCl 5% (v/v) e aquecida a 80°C sob agitação de 1200 rpm por 30 minutos. Em seguida, foram adicionados 30 mL de hidróxido de amônio NH_4OH gota a gota, mantendo-se o aquecimento e a agitação por mais 30 minutos. O precipitado foi então separado do sobrenadante utilizando um super imã, e esse processo foi repetido três vezes até que o pH atingisse o valor de 7. O precipitado foi lavado mais uma vez, desta vez com metanol, para remover qualquer excesso de água. Por fim, as nanopartículas foram armazenadas em uma placa de Petri colocadas dentro de um dissecador. Esse suporte foi denominado NPM (Nanopartículas de Magnética).

3.1.3 Pré-tratamento das matérias-primas

3.1.3.1 Hidrólise do Óleo Vegetal

Para realização deste processo, foram pesados 300 g do óleo vegetal e colocado para aquecer a 90 °C, sob agitação mecânica de 500 rpm. Em seguida, foi adicionada por gotejamento uma solução de NaOH 20% (m/v) até o pH 14 afim de garantir a completa saponificação do óleo, foi observado que a amostra de olho foi ficando mais pastosa. Em seguida, foi gotejada uma solução aquosa de H_2SO_4 a 6 mol.L⁻¹ até ao pH 2, mantendo a mesma temperatura de 90 °C e a agitação em 500 rpm. Observou-se que a medida que o processo foi ocorrendo a amostra foi ficando mais transparente. Ao final desse processo o produto foi levado para um funil de decantação para extração da glicerina fornada e promover a lavagem com água destilada do óleo hidrolisado sobrenadante até o pH atingir o valor 6.

3.1.4 Determinação do Índice de Acidez (IA)

O índice de acidez foi determinado pelo método oficial AOCS Cd 3d – 63 de titulometria de neutralização. Para isso, foram pesados num erlenmeyer de 250 mL, aproximadamente, 2,0 g da amostra de óleo vegetal e adicionados 25 mL de etanol 95% neutralizado, além de 2 gotas de solução alcóolica do indicador fenolftaleína a 0,2% para ser titulada com uma solução-padronizada de KOH (99%) a 0,1 mol.L⁻¹ até o ponto de viragem de incolor para róseo. Essa solução titulante de KOH foi antes padronizada com um padrão primário de biftalato de potássio (SEBASTIÃO *et al.*, 2018).

$$IA \left(\frac{\text{mg KOH}}{\text{g}} \right) = \frac{V \times f \times C \times 56.11}{m}$$

V = volume gasto de KOH (mL);

f = fator de correção da solução de KOH;

C = concentração da solução de KOH;

56,11 = massa molar do KOH e

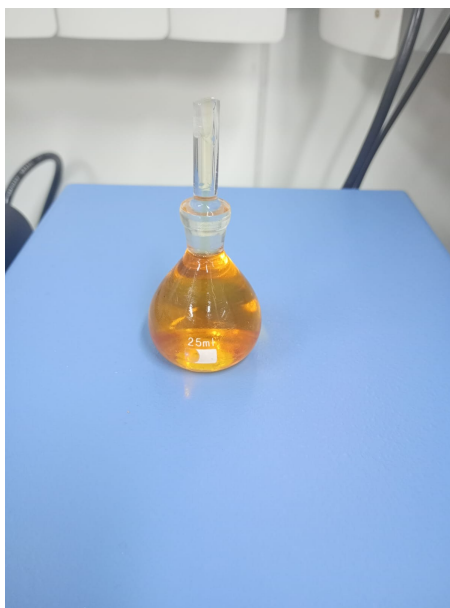
m = massa da amostra (g)

3.1.5 Determinação da Densidade

A densidade foi medida utilizando o método de picnometria. Primeiro, foi realizada a pesagem de um picnômetro vazio de 25 mL, registrando-se a massa do picnômetro seco (m₁, em gramas). Em seguida, o óleo vegetal foi adicionado ao picnômetro até atingir sua capacidade máxima, e o conjunto foi novamente pesado para obter a massa do picnômetro cheio (m₂, em gramas) (SEBASTIÃO *et al.*, 2018).

$$D(\text{g/mL}) = \frac{m_2 - m_1}{25}$$

Figura 9 – Determinação da densidade do óleo hidrolisado com auxílio de um picnômetro.



Fonte: o autor

3.1.6 TRATAMENTO DO SUPORTE COM G-AMINOPROPILTRIETOXISILANO (APTES)

A etapa inicial da reação envolveu a adição das nanopartículas magnéticas a 100 mL de etanol (95%). Em seguida, o material foi submetido a ultrassom por 1 hora. Após esse período, 10 mL de APTES foram adicionados e o processo foi continuado sob ultrassom por mais 1 hora. O material precipitado foi então lavado com etanol usando um ímã para auxiliar na separação, e em seguida transferido para um dessecador para secagem (SOUZA, 2013).

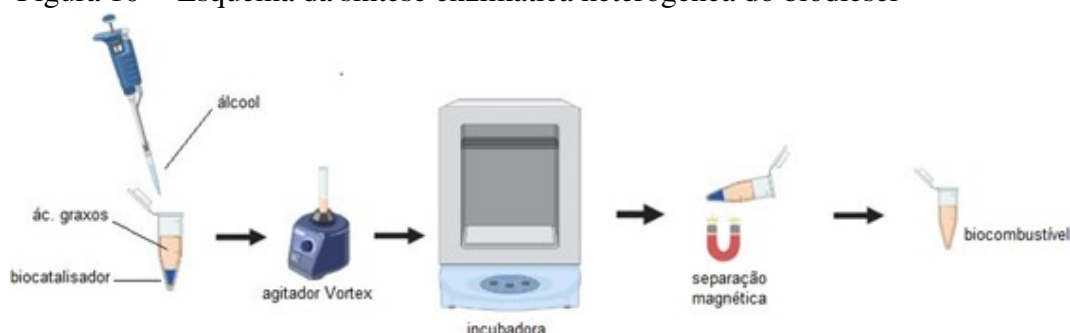
3.1.7 RETICULAÇÃO COM SOLUÇÃO DE GLUTARALDEÍDO (GLU)

As nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) foram dispersas em uma solução de 25% (p/v) de glutaraldeído (GLU), seguindo o protocolo descrito por Souza et al. (2017). Inicialmente, 25 μL de glutaraldeído foram misturados com 0,5g de partículas de magnetita. A reação foi realizada sob agitação por 2 horas a 25°C. Posteriormente, os suportes foram lavados três vezes com tampão fosfato de sódio 5 mmol.L⁻¹ (pH 7) para remover o excesso de glutaraldeído. O material resultante foi denominado NPM-GLU (SOUZA, 2013).

3.1.8 Imobilização

Primeiramente preparou-se 6 eppendorf nas quais 3 para etanol e 3 para metanol, pesou-se na balança de precisão 0,01g de nanopartículas para cada eppendofe juntamente com 25 μ L de glutaraldeído levado sob agitação no agitador para tubos hemograma tipo disco por 2 horas. Posteriormente lavado 2 vezes com 1ml cada após as duas horas. O suporte de nanopartículas magnéticas, tratado com APTES e reticulado com solução de glutaraldeído, foi avaliado quanto à sua capacidade de imobilização. O processo consistiu na mistura de 0,01 g de nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) com 0,5 mL de solução tampão de fosfato de sódio 5 mmol.L⁻¹, pH 7,0, a 25°C, sob agitação contínua de 45 rpm, por 1 hora. A enzima imobilizada foi então removida da solução por separação magnética e lavada 1 vez com 0,5 mL de tampão. O desempenho da enzima imobilizada foi avaliado, e os rendimentos, eficiências e atividades de recuperação foram calculados conforme descrito por (SHELDON; PELT, 2013). Resumidamente, o rendimento de imobilização foi determinado pela razão entre a atividade imobilizada (relacionada à atividade das enzimas retidas no suporte) e a atividade inicial. A atividade imobilizada foi calculada medindo a atividade enzimática residual total que permaneceu na solução enzimática após a imobilização e subtraindo-a da atividade inicial total. A atividade teórica (AtR) foi calculada utilizando o rendimento de imobilização (IY) e a carga enzimática. A atividade recuperada (AtR) foi calculada pela razão entre a atividade do biocatalisador (Atb) e a atividade teórica (AtT). A eficiência de imobilização foi determinada pela razão entre a atividade do biocatalisador (Atb) e a atividade imobilizada.

Figura 10 – Esquema da síntese enzimática heterogênea do biodiesel



Fonte: Júnior (2022)

3.1.8.1 Determinação da atividade enzimática

A atividade da enzima (80 UpNPB.g-1 suporte) foi medida espectrofotometricamente, utilizando 50 mmol.L-1 de butirato de p-nitrofenil (pNPB) em acetonitrila. A mistura de reação foi composta por 50 μ L de p-NPB, 2,5 mL de tampão fosfato de sódio 25 mmol.L-1 a pH 7, e 50 μ L da amostra ou 10 mg de biocatalisador, mantidos a 25 °C. O produto da hidrólise do p-NPB, o p-nitrofenol, foi quantificado através de espectrofotometria, utilizando um espectrofotômetro a um comprimento de onda de 348 nm.

$$\varepsilon = 10,052 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$$

Definiu-se uma unidade de atividade (U) como a quantidade de enzima capaz de hidrolisar 1 μ mol de substrato (p-NPB) por minuto nas condições descritas (SOUZA *et al.*, 2017). A concentração de proteína foi medida pelo método de Bradford, com a albumina sérica bovina como padrão.

3.1.9 Cinética

3.1.9.1 Esterificação enzimática

Para as reações dos substratos com o álcool etílico e metílico (proporção de 1:1 mol.L-1, óleo:álcool) e sem solvente foram utilizados 0,01 g do biocatalisador preparado (ET 2.0-NPM) com uma carga de 80 UpNPB.g-1 suporte, sob uma temperatura de 37 °C, agitação de 150 rpm e um tempo reacional de 16h de duração, conforme Figura 10 (OLIVEIRA *et al.*, 2020). 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 a (SOUZA *et al.*, 2017) com adaptações. Em seguida, o biocatalisador foi reutilizado em mais sete ciclos reacionais para avaliação de manutenção de sua eficiência. O índice de acidez foi analisado pelo método oficial AOCS Cd 3d - 63 (OLIVEIRA *et al.*, 2020).

4 RESULTADOS

O presente trabalho focou na produção de biodiesel a partir de óleos residuais, utilizando uma série de técnicas comprovadas. O processo envolveu a hidrólise dos óleos, tratamento com nanopartículas e glutaraldeído, imobilização enzimática, estudos cinéticos e, por fim, a titulação para determinar os índices de conversão. Essas etapas foram cuidadosamente executadas para otimizar a eficiência do processo e garantir a produção de ésteres de alta qualidade. Conhecer algumas propriedades físicas dos óleos de fritura, como a densidade e o teor de umidade, é de grande importância para o desenvolvimento do projeto, além de serem fatores essenciais para atender às especificações na produção de biodiesel. Essas características influenciam diretamente a eficiência do processo e a qualidade final do biocombustível produzido. Segundo (SILVA *et al.*, 2020), "a densidade e o teor de umidade dos óleos utilizados na produção de biodiesel têm impacto significativo tanto na conversão quanto nas propriedades finais do combustível, como o índice de acidez e a viscosidade", reforçando a necessidade do controle dessas variáveis.

4.1 ÍNDICE DE ACIDEZ

Com os resultados das análises mostrando índices de acidez o índice de acidez do óleo utilizado nas frituras (0,2760%) está abaixo do limite permitido pela (ANVISA, 2007) (0,3%) mostra que o óleo em questão mantém sua qualidade mesmo após o processo de fritura, sem apresentar sinais relevantes de degradação. Estudos na literatura corroboram esses achados. Por exemplo, (OLIVEIRA; SANTOS, 2018) analisaram óleos vegetais utilizados em frituras comerciais e destacaram a importância de controlar o índice de acidez para evitar degradação e formação de compostos prejudiciais à saúde. (OLIVEIRA *et al.*, 2020) verificaram que a manutenção da qualidade do óleo depende de práticas como controle da temperatura e tempo de uso durante a fritura repetitiva.

Tabela 4 – Índice de Acidez de Diferentes Tipos de Óleo

Óleo	Índice de Acidez %
Óleo amostra	0,2760
Soja *	< 0,3

Fonte: (*) ANVISA

4.2 DENSIDADES DO ÓLEO HIDROLISADO

A densidade do óleo de fritura hidrolisado foi determinada utilizando um picnômetro de 25 mL calibrado e comparada com a densidade do óleo de soja, conforme apresentado na Tabela.

Tabela 5 – Densidades dos óleos vegetais a 25°C

Óleo	Densidade (g/mL), 25°C
Residual	0,938
Soja*	0,914 – 0,922

Fonte: (*) MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2006

4.3 TEOR DE UMIDADE

As análises de determinação do teor de umidade dos óleos de fritura demonstraram que esses óleos apresentaram um baixo teor de umidade, conforme os valores encontrados. A baixa umidade é um fator positivo para a utilização desses óleos no experimento, pois contribui para a estabilidade da sua composição química, indicando que não houve degradação significativa durante o período de estocagem. Essas propriedades físicas qualificam os óleos de fritura como matérias-primas viáveis e tecnicamente adequadas para a produção de biodiesel, sem a necessidade de modificações nos processos já estabelecidos para o uso de óleo de soja.

Tabela 6 – Umidades dos óleos brutos.

Óleo bruto	Teor de umidade (%)
Residual	$\leq 0,1$
Soja*	$\leq 0,1$

Fonte: (*) MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2006

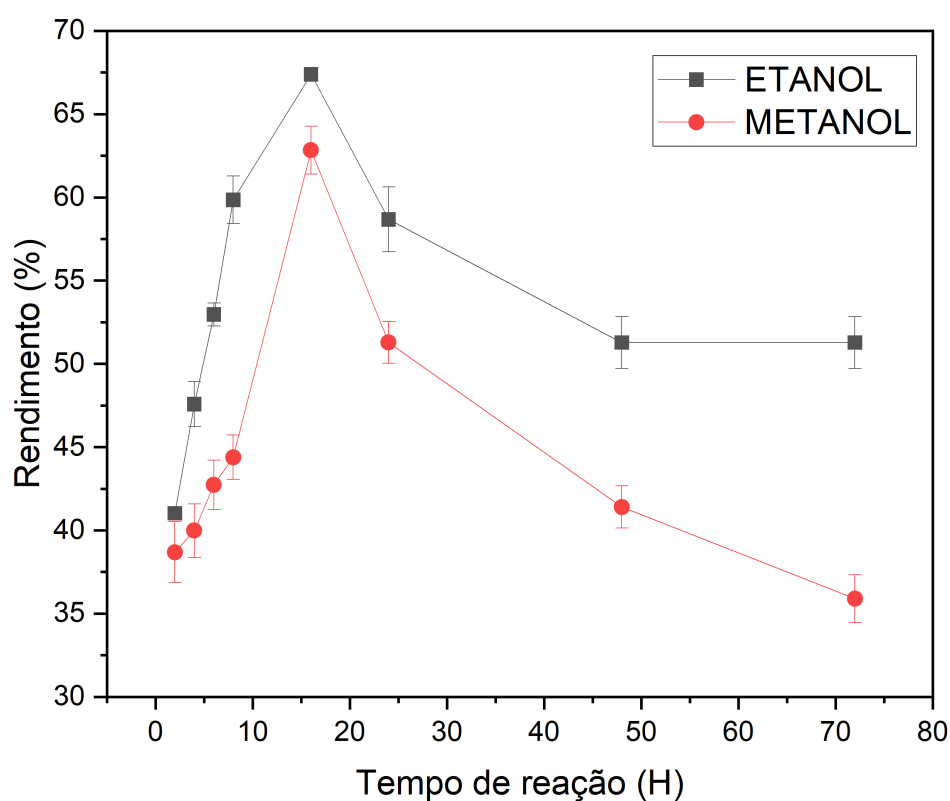
Portanto, as análises realizadas reforçam o potencial dos óleos de fritura como uma alternativa técnica e economicamente viável para a produção de biodiesel, ajudando a diversificar a matriz energética e a reduzir a dependência de combustíveis fósseis. Ao explorar essas fontes de matéria-prima, avançamos na construção de um sistema energético mais sustentável e integrado, alinhado com os princípios de economia circular e gestão inteligente de recursos.

4.4 REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO

4.4.1 Reação de Esterificação Heterogênea

A Esterificação dos ácidos graxos obtidos pela hidrólise do óleo de fritura, utilizando álcoois etílicos (na proporção de 1:1) e metílicos (também na proporção de 1:1). O processo foi realizado com a enzima (*Thermomyces lanuginosus*) TLL como catalisador, a uma temperatura de 37 °C, com agitação a 150 rpm, em tempos reacionais de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 e 72 horas.

Figura 11 – Esterificação dos ácidos graxos obtidos das hidrólises dos óleos de fritura com os álcoois etílicos (1:1) e metílicos (1:1) e utilizando o biocatalisadores TLL-NPM e a uma temperatura de 37 oC e agitação de 150 rpm e tempos reacionais de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48, 72h.



Fonte: elaborada pelo autor.

Neste estudo foi utilizado a enzima TLL para a produção de esteres na presença dos alcoois Etanol e Metanol. De acordo com a figura podemos observar que o alcool com melohr conversão foi o metanol no processo de 16H.

A produção de ésteres, ou seja, o rendimento de biodiesel, variou significativamente dependendo do tipo de álcool utilizado como reagente no processo de esterificação. O gráfico

indica que o etanol alcançou o maior percentual de conversão de aproximadamente 70% em 16 horas, enquanto o metanol obteve uma conversão máxima ligeiramente inferior, ao redor de 60%, também por volta das 16 horas.

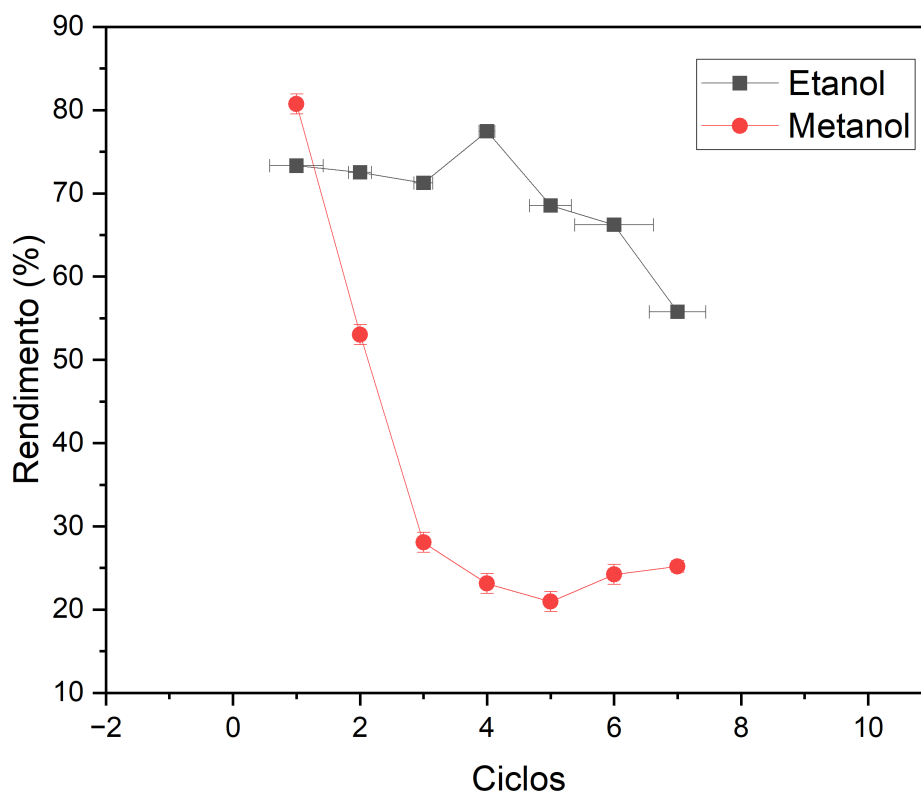
O etanol mostrou uma conversão mais alta e sustentada, o que pode ser vantajoso para processos industriais que buscam maximizar o rendimento do biodiesel. Por ser um biocombustível derivado de fontes renováveis, como cana-de-açúcar ou milho, o etanol pode ser preferido em algumas regiões devido à sua sustentabilidade e menor pegada de carbono em comparação ao metanol, que é geralmente derivado de fontes fósseis. Em comparação com outros estudos na literatura, uma pesquisa publicada por (ZHOU *et al.*, 2020) demonstrou que a transesterificação utilizando metanol como álcool levou a um pico de conversão de aproximadamente 80% em 6 horas, seguido de uma queda semelhante ao longo do tempo. Já em processos que utilizaram etanol, o rendimento máximo foi menor, cerca de 60%, mas a estabilidade foi maior. Essa diferença entre estudos pode ser atribuída a variações nas condições de reação, como tipo de catalisador, temperatura e agitação, que podem influenciar os resultados finais.

Os processos de síntese de biodiesel têm demonstrado alta eficiência ao empregar álcoois de cadeia curta, como metanol, etanol, 1- e 2-propanol, bem como isômeros do butanol. Na rota química, o metanol se destaca como a opção mais adequada devido à sua excelente reatividade com catalisadores alcalinos. Por outro lado, na rota enzimática, o etanol é preferido. Além de ser mais econômico em comparação ao etanol, o metanol é particularmente vantajoso na rota química por ser anidro, o que evita a formação de misturas azeotrópicas com a água. Essa característica é crucial para otimizar a eficiência do processo e garantir a pureza do produto final (GRUNWALD, 2014).

As reações de síntese de ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEE) e ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) utilizando catalisadores heterogêneos, especificamente enzimas TLL imobilizadas em NPM, foram conduzidas seguindo as combinações e codificações ilustradas na Figura XX, onde podemos verificar a manutenção da atividade catalítica após 7 ciclos. As reações de esterificação envolveram óleos de fritura hidrolisados com metanol e etanol como álcoois. Nessas reações, a enzima TLL imobilizada em NPM, designada como TLL-NPM, serviu como catalisador. Os parâmetros de reação para este estudo foram baseados nos valores ótimos identificados na pesquisa conduzida por (SOUZA, 2013), que especificou uma razão molar de 1:1 (óleo para álcool), uma temperatura de 37 °C, agitação a 150 rpm e um tempo de reação

de 16 horas. Após o ciclo inicial, os biocatalisadores foram reutilizados por mais oito ciclos, mantendo as mesmas condições de reação para cada período de 16 horas.

Figura 12 – Esterificação dos ácidos graxos obtidos das hidrólises dos óleos de fritura com os álcoois etílicos (1:1) e metílicos (1:1) e utilizando o biocatalisadores TLL-NPM e a uma temperatura de 37 oC e agitação de 150 rpm.



Fonte: elaborada pelo autor.

A análise do gráfico apresentado revela que, ao longo de 7 ciclos de reação, o metanol inicialmente alcançou uma maior taxa de conversão, atingindo um pico de cerca de 80% no primeiro ciclo. No entanto, observou-se um rápido declínio na conversão nos ciclos subsequentes, caindo para menos de 30% após o segundo ciclo e mantendo-se em níveis baixos até o final do experimento.

Em contraste, o etanol, embora apresentando uma conversão inicial menor que o metanol (por volta de 70%), manteve uma estabilidade maior ao longo dos ciclos, mostrando uma variação menor em sua eficiência. Esta diferença sugere que o etanol poderia ser uma opção mais sustentável e eficaz para processos de reutilização contínua, devido à sua maior estabilidade de conversão ao longo do tempo.

Para comparar com outro estudo, podemos considerar a pesquisa de (ZHOU *et al.*, 2020), que demonstrou comportamento semelhante em reações de esterificação utilizando lipases imobilizadas. Neste estudo, observou-se que o metanol, apesar de sua alta conversão inicial, tende a inibir as enzimas mais rapidamente, levando a uma redução acentuada da eficiência em processos de repetição, enquanto o etanol interage de forma menos agressiva com as enzimas, preservando sua atividade catalítica por mais ciclos. Essa estabilidade observada no uso do etanol pode ser vantajosa em termos de economia e eficiência energética para processos industriais que requerem múltiplas reutilizações do catalisador.

Esses resultados evidenciam a importância de considerar não apenas a taxa inicial de conversão, mas também a durabilidade e a consistência de desempenho ao longo do tempo para selecionar o álcool apropriado para a produção de biodiesel.

5 CONCLUSÕES

O óleo hidrolisado de fritura residual demonstrou um excelente resultado na conversão em ácidos graxos livres, evidenciando seu grande potencial para diversos processos, tanto enzimáticos quanto químicos.

Durante o processo de conversão utilizando o catalisador biológico, a enzima TLL, o álcool primário etanol apresentou um desempenho superior, permitindo uma maior reutilização do catalisador. Em contraste, embora o metanol tenha proporcionado uma maior taxa de conversão, sua eficiência diminuiu significativamente durante as reutilizações. Essa diferença de desempenho entre os dois álcoois destaca a importância da escolha do reagente na otimização dos processos enzimáticos para a produção de biocombustíveis.

Os óleos de fritura podem ser uma matéria-prima valiosa para a produção de biocombustíveis e outros produtos químicos de alto valor agregado.

REFERÊNCIAS

- AGENCIAGOV. **Produção de biocombustíveis cresce no Brasil e alcança recorde histórico.** 2024. Accessed: 2024-09-18. Disponível em: <https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202407/producao-de-biocombustiveis-cresce-no-brasil-e-alcanca-recorde-historico-1>.
- ALBERTS, B.; JOHNSON, A.; LEWIS, J.; RAFF, M.; ROBERTS, K.; WALTER, P. **Molecular biology of the cell.** 6th. ed. New York: Garland Science, 2015.
- ANVISA. **Regulamento Técnico sobre as Condições Higiênico-Sanitárias e de Boas Práticas de Fabricação para Estabelecimentos Produtores/Industrializadores de Alimentos.** Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2007. Disponível em: <https://www.anvisa.gov.br>.
- BARRETO, A. C. H. *et al.* Novel ferrofluids coated with a renewable material obtained from cashew nut shell liquid. **Microfluidics and Nanofluidics**, v. 12, n. 5, p. 677–686, Mar 2012.
- BASHIR, M. F.; SHAHBAZ, M.; MA, B.; ALAM, K. Evaluating the roles of energy innovation, fossil fuel costs and environmental compliance towards energy transition in advanced industrial economies. **Journal of Environmental Management**, v. 351, p. 119709, 02 2024.
- BERG, J. M.; TYMOCZKO, J. L.; STRYER, L. **Biochemistry.** 8th. ed. New York: W. H. Freeman, 2015.
- BERNAL, C.; RODRÍGUEZ, K.; MARTÍNEZ, R. Integrating enzyme immobilization and protein engineering: An alternative path for the development of novel and improved industrial biocatalysts. **Biotechnology Advances**, v. 36, n. 5, p. 1470–1480, 2018. ISSN 0734-9750. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975018301010>.
- BIODIESELBR. **Propriedades Físicas e Químicas do Biodiesel.** 2011. Accessed: 2024-09-18. Disponível em: <https://www.biodieselbr.com/biodiesel/especificacoes/biodiesel-propriedades-fisicas-quimicas>.
- BYJU'S. **Enzimas.** 2020. Accessed: 2024-09-18. Disponível em: <https://byjus.com/biology/enzymes/>.
- CAMINHA, R. A. A.; VIEIRA, T. F.; SILVA, W. L. G.; SILVA, M. D. C. N.; SILVA, W. D. Síntese enzimática de biodiesel a partir de óleo residual utilizando lipase imobilizada. **Revista Virtual de Química**, v. 11, n. 6, p. 1534–1551, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.21577/1984-6835.20190100>.
- CAMPBELL, M. K.; FARRELL, S. O. **Biochemistry.** 8th. ed. Boston: Cengage Learning, 2014.
- CAO, L. Immobilised enzymes: science or art? **Current Opinion in Chemical Biology**, v. 9, n. 2, p. 217–226, 2005. ISSN 1367-5931. Bioorganic chemistry / Biocatalysis and biotransformation. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1367593105000293>.
- CARVALHO, P.; GUEDES, R.; BRONZE, M.; FAUSTINO, C.; RIBEIRO, M. Design of a new gemini lipoaminoacid with immobilized lipases based on an eco-friendly biosynthetic process. **Catalysts**, v. 11, p. 164, 01 2021.
- CHILAKAMARRY, C.; KHILJI, I.; SIROHI, R.; PANDEY, A.; GURUNATHAN, B.; SATYAVOLU, J. Maximizing the value of biodiesel industry waste: Exploring recover, recycle, and reuse for sustainable environment. **Environmental Technology Innovation**, v. 32, p. 103447, 11 2023.

COSTA, P. R.; ROSSI, L. F. S. Produção de biocombustível alternativo ao Óleo diesel através da transesterificação de Óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**, v. 23, n. 4, p. 531–537, 2000.

CRUZ, D.; CASTRO, I.; SEHWARTZ, R.; CAMPOS, A.; PEREIRA, I.; VILHENA, A.; MARTELLI, M. Avaliação das propriedades físico-químicas e do desempenho das três gerações de biodiesel através do processo de transesterificação: uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, p. e23111427234, 03 2022.

ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ-REINARES, A. Ethanolysis of used frying oil. biodiesel preparation and characterization. **Fuel Processing Technology**, v. 88, n. 5, p. 513–522, 2007.

ENERGIA, M. de Minas e. **Sobre o Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel - PNPB**. 2024. Accessed: 2024-09-18. Disponível em: <https://antigo.mme.gov.br/web/guest/secretarias/petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis/acoes-e-programas/programas/biodiesel/sobre-o-pnpb>.

FREIRE, D. M. G.; TAVARES, D. S. Hidroesterificação aplicada à produção de biodiesel a partir de óleos de baixa qualidade. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 36, n. 4, p. 1023–1035, 2019.

GRUNWALD, P. **Industrial Biocatalysis**. Jenny Stanford Publishing, 2014. (Pan Stanford Series on Biocatalysis). ISBN 9789814463898. Disponível em: https://books.google.com.br/books?id=FG_vBQAAQBAJ.

GUPTA, R.; BEG, Q. K.; LORENZ, P. Bacterial alkaline proteases: Molecular approaches and industrial applications. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 59, n. 1, p. 15–32, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-002-0975-y>.

HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. Industrial applications of microbial lipases. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, n. 2, p. 235–251, 2006. ISSN 0141-0229. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141022905004606>.

HASSAN, Q.; VIKTOR, P.; AL-MUSAWI, T.; ALI, B.; ALGBURI, S.; ALZOUBI, H.; KHUDHAIR, A.; ZUHAIR, A.; SALMAN, H.; JASZCZUR, M. The renewable energy role in the global energy transformations. **Renewable Energy Focus**, v. 48, p. 100545, 03 2024.

Júnior, J. B. Síntese de biodiesel de babaçu e tucumã catalisado por enzimas lecitase e eversa transforma 2.0. **Nome do Periódico ou Conferência**, 2022.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 10, n. 3, p. 248–268, 2006.

MENDOÇA, R.; PINTO, J.; MEDEIROS, O. Biodiesel a partir de óleo residual de fritura: Alternativa energética e desenvolvimento sócio-ambiental. **XXVIII Encontro Nac Eng Produção**, p. 1–10, 01 2008.

MONIKA; BANGA, S.; PATHAK, V. V. Biodiesel production from waste cooking oil: a comprehensive review on the application of heterogenous catalysts. **Energy Nexus**, Elsevier BV, v. 10, p. 100209, 2023. Accessed: 2024-08-08. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2772427123000396>.

NASCIMENTO, T.; GURGEL, H.; BERTINI, L.; MACIEL, M.; RIOS, M. O biodiesel na matriz energética brasileira: da sua inserção aos dias atuais. **Revista Principia - Divulgação Científica e Tecnológica do IFPB**, v. 60, 03 2022.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger Principles of Biochemistry**. 7th. ed. New York: W. H. Freeman, 2017.

OGUNKUNLE, O.; AHMED, N. Overview of biodiesel combustion in mitigating the adverse impacts of engine emissions on the sustainable human–environment scenario. **Sustainability**, v. 13, p. 5465, 05 2021.

OLIVEIRA, M. J.; SANTOS, J. A. Qualidade de óleos vegetais utilizados em frituras comerciais. **Revista Brasileira de Tecnologia Alimentar**, ABTAL, v. 22, n. 3, p. 45–53, 2018.

OLIVEIRA, V. F. D. *et al.* Fatty acid alkyl esters obtained from babassu oil using c1–c8 alcohols and process integration into a typical biodiesel plant. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 160, p. 224–232, 2020.

OSMAN, A.; NASR, M.; FARGHALI, M.; RASHWAN, A.; ABDELKADER, A.; AL-MUHTASEB, A.; IHARA, I.; ROONEY, D. Optimizing biodiesel production from waste with computational chemistry, machine learning and policy insights: a review. **Environmental Chemistry Letters**, v. 22, 02 2024.

PARADA, C.; FABIANI, M.; VELÁZQUEZ, S. O biodiesel na matriz energética veicular brasileira. **Revis Mackenzie de Engenharia e Computação**, v. 12, p. 94–111, 01 2012.

Prepara Enem. **Reações de Esterificação**. 2024. Acesso em: 2 nov. 2024. Disponível em: <https://www.preparaenem.com/quimica/reacoes-esterificacao.htm>.

PURICH, D. L. Enzyme catalysis: a new definition accounting for noncovalent substrate- and product-like states. **Trends in Biochemical Sciences**, v. 26, n. 7, p. 417–421, 2001. ISSN 0968-0004. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0968000401018801>.

RASMAN, M.; HASSAN, N.; HAININ, M. R.; JAYA, R. P.; YAACOB, H.; SHUKRY, N. M.; ABDULLAH, M. E.; KAMARUDDIN, N. H. M. Engineering properties of bitumen modified with bio-oil. **MATEC Web of Conferences**, v. 250, p. 02003, 01 2018.

SANTOS, J. C. S.; PAULA, A. V. d.; FERNANDES, P.; FREIRE, D. M. G. Characterization and utilization of immobilized lipases in biofuels production. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 100, p. 84–94, 2015.

SANTOS, M. X.; SILVA, J. G. F. d. Aproveitamento do óleo residual de fritura na produção de biodiesel; utilization of residual frying oil in biodiesel production. **REMEA - Revista Eletrônica do Mestrado em Educação Ambiental**, v. 33, n. 1, p. 299–306, maio 2016. Disponível em: <https://periodicos.furg.br/remea/article/view/5111>.

SEBASTIÃO, J. *et al.* Esterificação e transesterificação homogênea de óleos vegetais contendo alto teor de ácidos graxos livres. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 10–16, 2018.

SHELDON, R. A.; PELT, S. V. Enzyme immobilisation in biocatalysis: Why, what and how. **Chemical Society Reviews**, v. 42, n. 15, p. 6223–6235, 2013.

SILVA, J.; SOUZA, M.; OLIVEIRA, P. Impacto das propriedades físicas dos óleos de fritura na eficiência da produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Biocombustíveis**, Associação Brasileira de Biocombustíveis, v. 15, n. 3, p. 234–245, 2020.

SOUZA, C.; CHAAR, J.; SOUZA, R.; JEFFREYS, M.; SOUZA, K.; COSTA, E.; SANTOS, J. Physical chemical characterization of binary mixtures of biodiesel and diesel commercialized in amazonas. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 383–387, 12 2008.

SOUZA, C.; CHAAR, J.; SOUZA, R.; JEFFREYS, M.; SOUZA, K.; COSTA, E.; SANTOS, J. Physical chemical characterization of binary mixtures of biodiesel and diesel commercialized in amazonas. **Acta Amazonica**, v. 39, p. 383–387, 12 2008.

SOUZA, M. C. M. d. **Imobilização de lipase de *Candida antarctica* do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, [s.l.], 2012.

SOUZA, M. C. M. d. **Imobilização de lipase de *Candida Antarctica* do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. Tese (Tese (Doutorado em Engenharia Química)) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013. 87 f., Centro de Tecnologia.

SOUZA, M. C. M. d. *et al.* Production of flavor esters catalyzed by lipase b from *Candida antarctica* immobilized on magnetic nanoparticles. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 34, n. 3, p. 681–690, jul 2017.

WANG, Y.; WANG, B.; ZHANG, L. Magnetic nanoparticles for efficient biodiesel production via catalytic transesterification. **Renewable Energy**, v. 85, p. 1–8, 2016.

XIE, W.; ZHAO, L.; WANG, T. Immobilized magnetic nanoparticles as a highly efficient catalyst for biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, v. 235, p. 349–355, 2014.

ZHOU, Y.; WANG, L.; CHEN, J. Optimization of biodiesel production via transesterification: Comparing ethanol and methanol as reactants. **Journal of Renewable Energy Chemistry**, Elsevier, v. 45, p. 123–134, 2020.

ZUNIGA, A. Revisão: propriedades físico-químicas do biodiesel. **Pesticidas: Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, v. 21, 02 2012.