



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA
INSTITUTO DE ENGENHARIAS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL
(IEDS)**

FRANCISCO GILIARDSON BARBOSA DE OLIVEIRA

**SÍNTESE DE BIODIESEL ATRAVÉS DO ÓLEO RESIDUAL CATALISADO
PELA ENZIMA Eversa® TRANSFORM 2.0 SUPOORTADA EM
NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS**

REDENÇÃO-CE

2024

FRANCISCO GILIARDSON BARBOSA DE OLIVEIRA

SÍNTESE DE BIODIESEL ATRAVÉS DO ÓLEO RESIDUAL CATALISADO PELA
ENZIMA EVERSA® TRANSFORM 2.0 SUPORTADA EM NANOPARTÍCULAS
MAGNÉTICAS

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito para obtenção
do título de Bacharel em Engenharia de
Energias da Universidade da Integração
Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira

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

Co-Orientadora: Dr^a. Juliana de França Serpa.

REDENÇÃO - CE

2024

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

Oliveira, Francisco Giliardson Barbosa de.

O42s

Síntese de biodiesel através do óleo residual catalisado pela enzima eversa® transform 2.0 suportada em nanopartículas magnéticas / Francisco Giliardson Barbosa de Oliveira. - Redenção, 2024.
59f: il.

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

Orientador: Prof^a Dra. Maria Cristiane Martins de Souza.
Coorientador: Profa. Dra. Juliana de França Serpa.

1. Biocombustíveis. 2. Eversa® transform 2.0. 3. Nanopartículas magnéticas. 4. Óleos residuais de fritura. I.
Título

CE/UF/BSCA

CDD 363.700981

FRANCISCO GILIARDSON BARBOSA DE OLIVEIRA

SÍNTESE DE BIODIESEL ATRAVÉS DO ÓLEO RESIDUAL CATALISADO PELA
ENZIMA Eversa® TRANSFORM 2.0 SUPORTADA EM NANOPARTÍCULAS
MAGNÉTICAS

Monografia do Trabalho Final do Curso de Engenharia de Energias da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Engenheiro de Energias.

Aprovado em: ___/___/2024.

BANCA EXAMINADORA

Profª Dra. Maria Cristiane Martins de Souza (Orientadora)

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira –
UNILAB

Dra. Juliana de França Serpa (Co-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

Profª Me. Kaiany Moreira dos Santos

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira –
UNILAB

*"A mente que se abre a uma nova ideia
jamais voltará ao seu tamanho original."
(Albert Einstein).*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço ao meu pai, Deus todo poderoso, que me orientou e me sustentou até aqui.

Agradeço a minha família pelo carinho e apoio em todas as etapas de minha vida, no qual foram de extrema importância para vencer as dificuldades. Em especial minha esposa, pelo apoio prestado em todos os momentos, por estar sempre me incentivando e contribuindo com os meus sonhos, sua parceria deixou o percurso bem mais leve.

A Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira - UNILAB, em especial ao Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável – IEDS, por viabilizarem o curso de Energia de Energias.

À minha orientadora Dr^a. Maria Cristiane Martins de Souza por me aceitar no seu grupo de estudo e por incentivar a pesquisa de uma forma exemplar.

A Dr^a Juliana de França Serpa por toda ajuda e paciência no desenvolvimento deste trabalho, no qual foi imprescindível para a conclusão dessa pesquisa.

Ao Prof. Dr. José Cleiton Sousa dos Santos pelo apoio ao conseguir a análises de nossas amostras e por demonstrar ser um grande impulsionador à pesquisa.

Agradeço também aos meus amigos Jardel e Francisca pelo apoio prestado. E a todos que de maneira indireta ou diretamente contribuíram na finalização deste trabalho. Muito obrigado!

RESUMO

O consumo demasiado de combustíveis fósseis é um impulsionador da crescente emissão dos gases de efeito estufa (GEE), dentre os quais destacam-se o dióxido de carbono (CO₂), óxido nitroso (N₂O) e metano (CH₄), que são os principais agentes das mudanças climáticas globais. Nesse contexto, os biocombustíveis vêm atraindo cada vez mais interesse em estudos que utilizem matérias-primas sustentáveis e eficientes na produção de fontes de energia de menor impacto ambiental, como os denominados combustíveis verdes. Sob essa perspectiva, os óleos residuais de fritura (ORF) aparecem como uma opção na produção de biocombustíveis. Predominantemente, esses óleos são o resultado de processos em lanchonetes, cantinas, cozinhas comerciais, domésticas e industriais. Esta pesquisa tem como objetivo a produção de biodiesel por meio da esterificação do óleo de soja residual, usando biocatalisadores como alternativa na produção de biocombustíveis. Neste estudo, a enzima Eversa® transform 2.0 foi imobilizada em nanopartículas magnéticas e empregada como biocatalisador. O ORF foi hidrolisado por rota química, seus ácidos graxos livres foram esterificados com etanol e metanol por meio de rota enzimática, na temperatura de 37°C, com agitação de 150 rpm, razão molar de 1:1 e tendo como biocatalisador a enzima Eversa® Transform 2.0 em NPM-Fe. O procedimento cinético foi realizado sob as condições mais favoráveis de imobilização e analisado nos tempos de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 e 72 horas, em 37°C e com agitação de 150 rpm. O biocatalisador ET 2.0-NPM apresentou uma conversão de ésteres de 98,64% para o etanol e 97,88% para o metanol após 16 horas de reação. Efetuou-se 12 ciclos contínuos com base no melhor tempo de conversão, até o 5º ciclo a conversão se conservou acima de 82% para ambos os álcoois, constatando que os ésteres foram formados. A partir do 6º ciclos em diante, verificou-se a diminuição da produção de ésteres, no qual variou de 71,48% a 54,99% para o etanol e 67,75% a 41,06% para o metanol.

Palavras-chaves: Eversa® transform 2.0. Nanopartículas magnéticas. Óleos Residuais de Fritura. Biocombustíveis.

ABSTRACT

Excessive consumption of fossil fuels is a major driver of the increasing emissions of greenhouse gases (GHG), among which carbon dioxide (CO₂), nitrous oxide (N₂O), and methane (CH₄) stand out as the main agents of global climate change. In this context, biofuels have garnered growing interest in studies utilizing sustainable and efficient raw materials for producing energy sources with a lower environmental impact, such as the so-called green fuels. From this perspective, residual frying oils (RFO) emerge as an option for biofuel production. Predominantly, these oils result from processes in fast-food establishments, cafeterias, commercial kitchens, domestic households, and industrial settings. This research aims to produce biodiesel through the esterification of residual soybean oil using biocatalysts as an alternative in biofuel production. In this study, the enzyme *Eversa*® *Transform 2.0* was immobilized on magnetic nanoparticles and employed as a biocatalyst. The RFO was hydrolyzed via a chemical route, and its free fatty acids were esterified with ethanol and methanol through an enzymatic route at a temperature of 37°C, under agitation at 150 rpm, a molar ratio of 1:1, and using *Eversa*® *Transform 2.0* enzyme immobilized on magnetic nanoparticles (*NPM-Fe*) as the biocatalyst. The kinetic procedure was conducted under the most favorable immobilization conditions and analyzed at intervals of 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48, and 72 hours at 37°C with agitation at 150 rpm. The biocatalyst ET 2.0-NPM achieved ester conversion rates of 98.64% for ethanol and 97.88% for methanol after 16 hours of reaction. Twelve continuous cycles were performed based on the optimal conversion time. Up to the 5th cycle, the conversion remained above 82% for both alcohols, confirming that esters were formed. From the 6th cycle onward, a decrease in ester production was observed, ranging from 71.48% to 54.99% for ethanol and from 67.75% to 41.06% for methanol.

Keywords: *Eversa*® *Transform 2.0*. Magnetic Nanoparticles. waste frying oils. Biofuels.

LISTA DE FIGURAS

Figura 01. Reação de esterificação do ácido graxo.....	21
Figura 02. Representação da reação de transesterificação.....	21
Figura 03. Processo de hidroesterificação.....	23
Figura 04. Ativação interfacial da lipase com uma interface hidrofóbica.....	25
Figura 05. Técnicas de imobilização de enzimas.....	27
Figura 06. Localização do município de Acarape (ce).....	31
Figura 07. Subseqüências da formação das nanopartículas magnéticas.....	32
Figura 08. Reação das NPM com g-aminopropiltrietoxisilano (APTES).....	33
Figura 09. Subseqüências da hidrólise do óleo residual.....	35
Figura 10. Amostra após o resfriamento.....	37
Figura 11. Determinação da densidade do óleo residual de fritura hidrolisado utilizando o picnômetro.....	38
Figura 12. Síntese de oleato de etila utilizando ET 2.0-NPM imobilizada, com os álcoois etanol (■) e metanol (●) com carga enzimática 200 U.g-1 , a 37°C, 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 e 72 horas em agitação de 150 rpm.....	44
Figura 13. Estabilidade operacional da síntese de oleato de etila empregando ET 2.0-NPM carga enzimática 200 U.g-1 , a 37°C. Com períodos de 16 horas, sob agitação de 150 rpm.....	45

SUMÁRIO

1 - INTRODUÇÃO.....	11
1.1 - OBJETIVO GERAL.....	14
1.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	14
2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1 - Biodiesel no Brasil.....	15
2.2 - Matérias-primas na produção de Biodiesel.....	17
2.3 - Óleos vegetais e residuais.....	19
2.4 - Métodos de produção do biodiesel.....	20
2.4.1 - Esterificação.....	20
2.4.2 - Transesterificação.....	21
2.8.3 - Hidroesterificação.....	22
2.5 - Enzimas.....	23
2.6 - Lipases.....	24
2.7 - Enzima Eversa® Transform 2.0.....	25
2.8 - Imobilização enzimática.....	26
2.9 - Nanopartículas magnéticas de ferro (NPM-Fe).....	28
3 - METODOLOGIA.....	31
3.1 - MATERIAIS E MÉTODOS.....	31
3.1.1 - Materiais.....	31
3.1.2 - Nanopartículas Magnéticas (NPM).....	31
3.2.1 - Síntese das Nanopartículas Magnéticas (NPM).....	32
3.2.2 - Tratamento do suporte com g-aminopropiltriétoxissilano (APTES).....	33
3.2.3 - Reticulação com solução de glutaraldeído (GLU).....	34
3.2.4 - Imobilização da Eversa® transform 2.0 ao suporte.....	34
3.2.5 - Determinação da atividade enzimática.....	35
3.2.6 - Hidrólise do óleo residual.....	35
3.2.7 - Determinação do Teor de Umidade e densidade do óleo residual de fritura.....	36
3.2.7.1 - Teor de Umidade.....	36
3.2.7.2 - Determinação da Densidade.....	37
3.2.8 - Estabilidade funcional de Eversa® Transform 2.0 imobilizada.....	38
3.2.8.1 - Cinética.....	38
3.2.8.2 - Síntese.....	38
4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	40
4.1 - Densidade dos óleos hidrolisados.....	40
4.2 - Teor de umidade.....	41
4.3 - Análise das reações de esterificação.....	41
4.4 - Estabilidade operacional.....	44
4.5 - Estudos futuros.....	46
5 - CONCLUSÕES.....	48
6 - REFERÊNCIAS.....	49

1 - INTRODUÇÃO

O petróleo como sendo umas das principais commodities do mundo devido sua versatilidade, impacta diretamente no sistema econômico mundial. A oscilação dos preços, juntamente com o crescimento econômico são essencialmente influenciados pela volatilidade dos preços do petróleo, ocasionando uma diminuição em períodos de acréscimos nos valores (Hamilton *et al.*, 2009). Por essa razão, o comércio internacional é veementemente influenciado com as variações nos preços do petróleo. De acordo com Baumeister *et al.*, (2015) às flutuações nos preços ocasionam um impacto considerável nas balanças comerciais em nações que dependem da importação do petróleo.

Outro aspecto importante concernente às fontes de combustíveis fósseis é a emissão dos Gases de Efeito Estufa (GEE), tendo como exemplo, o dióxido de carbono (CO₂) sendo um dos mais prejudiciais, o dióxido de enxofre (SO₂), o óxido nitroso (N₂O) e o metano (CH₄). Conforme estudo da Agência Internacional de Energia (IEA) sobre perspectivas energéticas mundiais de 2023, evidencia o impacto dos combustíveis fósseis no aquecimento global, correspondendo a uma expressiva parcela na evolução das temperaturas globais nos últimos tempos. Dessa forma, fica perceptível a inevitabilidade de uma transição energética para fontes mais sustentáveis.

A 21ª Conferência das Partes da Convenção-Quadro das Nações Unidas sobre a Mudança do Clima (UNFCCC) em 2015 durante o Acordo de Paris, regulamentou um conjunto de metas e compromissos a serem seguidos para os países reduzirem suas emissões de gases de efeito estufa, com o propósito de atenuar as mudanças climáticas e fomentar o desenvolvimento sustentável. Sendo assim, o Acordo de Paris é visto como um marco fundamental na luta contra as mudanças climáticas e concomitantemente como forte impulsionador de uma economia limpa e sustentável.

O desenvolvimento e aperfeiçoamento de fontes energéticas alternativas vêm ganhando cada vez mais espaço no cenário mundial, propondo reduzir a dependência energética e econômica de combustíveis fósseis. Nessa circunstância, os denominados biocombustíveis provenientes de biomassa vem ganhando cada vez mais espaço na busca de fontes energéticas sustentáveis. No Brasil, em conformidade com o Ministério de Minas e Energia (MME), em 2020 os biocombustíveis corresponderam a cerca de 20% do consumo total dos transportes no país. O governo federal busca estender ainda mais esse número por meio da Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio) (Brasil, 2021).

Nesse cenário, aparece o biodiesel, como uma escolha ao diesel petroquímico uma vez que é um biocombustível proveniente de gorduras animais e diferentes tipos de oleaginosas. Conforme apontado por Martins *et al.*, (2020), o biodiesel, derivado de óleos vegetais e gorduras de origem animal é um combustível renovável. Seu uso como alternativa ao diesel convencional colabora para minimizar a emissão de gases de efeito estufa e conseqüentemente melhorar a qualidade do ar. A aplicação do biodiesel em motores a diesel acarreta em uma expressiva redução das emissões de poluentes, incluindo particulados e óxidos de nitrogênio, colaborando na melhoria das propriedades do ar (Silva *et al.*, 2021).

A geração do biodiesel é resultante de um processo de transesterificação também denominado como alcoólise. Esse tipo de reação ocorre no momento que triglicerídeos de gorduras animais ou vegetais são misturados com álcool, como metanol e etanol, em um meio alcalino, no qual geram ésteres monoalquílicos, como metila e etila (Barros e Jandine, 2021). Ademais, na produção de biodiesel ocorre a interação com um catalisador, esse pode ser enzimático ou químico que ao fim da reação produzirá o biodiesel e glicerina. Segundo Silva *et al.*, (2021) a seleção do catalisador apresenta conseqüências significativas na efetividade do processo de transesterificação, pois além de induzir a taxa de conversão dos triglicerídeos em biodiesel atua também na qualidade do produto final.

Em conformidade com Garcia *et al.*, (2019) o emprego de catalisadores biológicos, como as lipases, confirmou uma enorme potencialidade na transesterificação de óleos vegetais na produção de biodiesel, no qual demonstrou vantagens no funcionamento em condições amenas e a capacidade de reaproveitamento. Dessa forma, a utilização de catalisadores biológicos (enzimas) na geração de biodiesel vem ganhando bastante proporção no panorama nacional e internacional, pois além de sua reutilização o catalisador não contamina o meio reacional.

As enzimas normalmente funcionam como catalisadores homogêneos e solúveis, contudo ao serem submetidas ao processo de imobilização em nanopartículas magnéticas de ferro, se comportam como catalisadores heterogêneos. As nanopartículas magnéticas de ferro (NPM-fe) funcionam como suporte na imobilização de enzimas, melhorando a catálise do biodiesel em óleos vegetais. A enzima no qual esse estudo faz referência é a lipase Eversa® transform 2.0. No qual, em conformidade com DE Oliveira (2020) é uma solução enzimática produzida pela Novozymes Corp. a partir da lipase *Thermomyces lanuginosus*, cultivada em *Aspergillus oryzae*., especificamente,

para geração de biodiesel na forma livre. A imobilização da enzima Eversa® com a utilização de nanopartículas magnéticas de ferro constatou uma melhoria na transesterificação de óleos vegetais na geração de biodiesel (Silva *et al.*, 2023).

Conforme Silva *et al.*, (2017), frequentemente a imobilização enzimática pode proporcionar melhorias relevantes na atividade da enzima e na seletividade das proteínas e reduzir os efeitos de inibição, alterando ou bloqueando o centro ativo das enzimas e diminuindo a inibição por algum substrato, componente do meio bruto ou produto da reação. Nesse sentido, o uso da enzima Eversa® imobilizada com NPM-fe na produção de biodiesel no reaproveitamento do óleo residual de fritura, representa uma importante ferramenta contra o descarte inadequado deste produto (Costa *et al.*, 2021).

O óleo de cozinha residual é um resíduo capaz de contaminar os lençóis freáticos e a superfície terrestre no momento em que é despejado de forma incorreta. A dissolução do óleo residual ocasiona o desenvolvimento de compostos tóxicos prejudiciais ao meio ambiente (Costa *et al.*, 2021). Desta maneira, a utilização do óleo residual de fritura na produção de biodiesel fomenta a diminuição do descarte inadequado como corrobora para conservação do meio ambiente.

Dessa forma, dando prosseguimento a utilização do óleo de cozinha na produção de biodiesel foi utilizado o método de hidrólise do óleo residual. Esse processo, é de extrema importância principalmente quando o óleo apresenta altos teores de ácidos graxos livres. A aplicação da hidrólise de óleos residuais com a utilização de enzimas além de melhorar a efetividade na produção de biodiesel também atua na redução de subprodutos indesejados (Silva *et al.*, 2022).

O presente trabalho busca viabilizar a produção de biodiesel por meio da reutilização do óleo residual de fritura, através da imobilização da enzima Eversa® transform 2.0 em nanopartículas magnéticas de ferro. Posteriormente, avaliar e realizar as devidas comparações por meio do estudo cinético para determinar os melhores tempos de reação para o metanol e o etanol e, com esses dados, analisar a eficiência na conversão de ésteres para a produção de biodiesel.

1.1 - OBJETIVO GERAL

Analisar a viabilização da produção de biodiesel por meio da reutilização do óleo residual de fritura, através da imobilização da enzima Eversa® transform 2.0 em nanopartículas magnéticas de ferro.

1.2 - OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Efetuar o pré-tratamento do óleo residual de fritura (ORF) para geração de biodiesel;
- Certificar a eficiência da etapa de pré-tratamento procedendo testes de índice de acidez;
- Reutilizar óleo residual de fritura (ORF) para a produção de biodiesel;
- Compreender a alteração da superfície das nanopartículas magnéticas de ferro com aminopropiltriétoxissilano (APTES) para subsequente imobilização de CALB;
- Imobilizar a enzima Eversa® transform 2.0 em nanopartículas magnéticas por imobilização covalente;
- Executar as reações de esterificação do óleo de fritura e utilizar cada um dos álcoois primários (etanol e metanol), com a enzima Eversa® transform 2.0 imobilizada em nanopartículas magnéticas;
- Estudar o decaimento da atividade enzimática do biocatalisador por meio de ciclos repetitivos de reuso dos mesmos;
- Relacionar os rendimentos das sínteses dos ésteres obtidos e apresentar os melhores resultados;

2 - REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 - Biodiesel no Brasil

A incorporação dos biocombustíveis no Brasil iniciou na década de 1970, sobretudo após a Crise do Petróleo em 1973. Em 1975 o Governo Federal instituiu o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), fomentando a geração de etanol tendo como matéria-prima a cana-de-açúcar como possibilidade à gasolina. Em 1983 em decorrência do preço do petróleo o Governo Federal implementou o Programa Nacional de Energia de Óleos Vegetais (Projeto OVEG) com o objetivo efetuar estudos em relação ao nível de biodiesel puro que poderia ser adicionado ao diesel mineral. Estes projetos foram referências para o desenvolvimento de novas políticas e avanço do setor de biocombustíveis no Brasil. Segundo Ramos *et al.*, (2011) o Programa Brasileiro de Biocombustíveis (PROBIODIESEL) de 2002, instaurado pelo Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI) objetivava impulsionar os setores comprometidos com o avanço dos biocombustíveis em relação a viabilidade econômica, técnica e socioambiental.

Conforme o Ministério de Minas e Energia (MME), em 2003, iniciou-se as primeiras pesquisas para a formação de uma política do biodiesel no Brasil e, em 2004, o governo brasileiro instaurou o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB). Portanto, o programa tinha como finalidade incorporar o biodiesel na matriz energética brasileira, objetivando o desenvolvimento regional e a inclusão social. Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (2024), a adição do biodiesel ao diesel fóssil iniciou em 2004, entretanto, só em 2005 a 2007 a comercialização no teor de 2% foi estabelecida de forma facultativa. Passando a ser obrigatório com o artigo 2º da Lei nº 11.097/2005, que estabeleceu o biodiesel na matriz energética brasileira (Brasil, 2005). Entretanto, só em janeiro de 2008 entrou em vigência a combinação legal de 2% (B2) no território nacional. Esse percentual foi aumentando conforme o desenvolvimento do mercado nacional como mostra a tabela 01, conforme dados do Conselho Nacional de Políticas Energéticas (CNPE).

Tabela 01. Percentual obrigatório do biodiesel no diesel fóssil.

Ano	Mistura Obrigatória do biodiesel no diesel
2004	2% (experimental)
2005-2007	2% (facultativo)
2008	2% (obrigatório)
2010	5%
2014	6%
2018	10%
2019	11%
2021	13% (com redução para 10% em setembro)
2021-2022	10%
2023	12% (a partir de abril)
2024	13% (esperado)
2025	14% (esperado)
2026	15% (esperado)

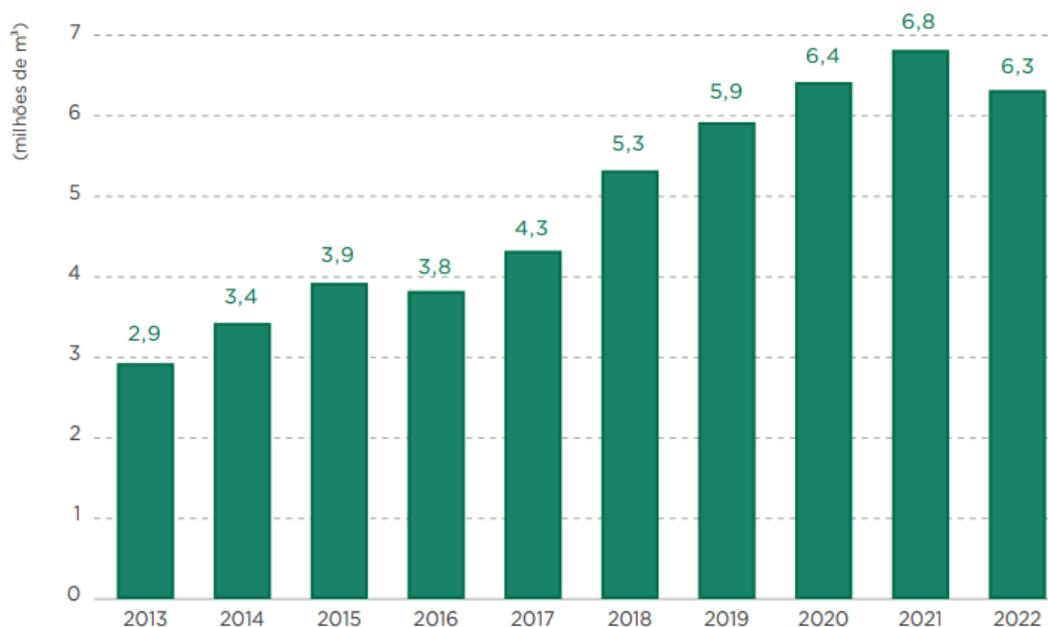
Fonte: Elaboração própria, conforme resolução CNPE nº 3/2023 e Resolução ANP nº 920/2023.

Nesse contexto, a produção de biodiesel no Brasil teve bastante influência com políticas de desenvolvimento que impulsionaram o crescimento desse combustível no país. Em 2023, o Brasil se estabeleceu na terceira posição no ranking mundial de produção de biodiesel, no qual corresponde a aproximadamente 15% da geração global. A produção brasileira resultou em um total superior a 7,5 bilhões de litros, um acréscimo significativo em comparação aos anos anteriores, incentivado pelo aumento da porcentagem do biodiesel em 12% ao diesel convencional em abril de 2023 (AGÊNCIA GOV, 2023).

Em conformidade com o Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2023, divulgado pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), no ano de 2022 o potencial nominal de biodiesel (B100) era de aproximadamente 13,7 milhões de m³. No entanto, a produção do país foi cerca de 6,2

milhões de m³ como mostrado no gráfico 01, valor proporcional a 46,4% da capacidade total.

Gráfico 01. Evolução da produção de biodiesel (B100) - 2013 - 2022.



Fonte: ANP, 2023 (adaptado).

2.2 - Matérias-primas na produção de Biodiesel

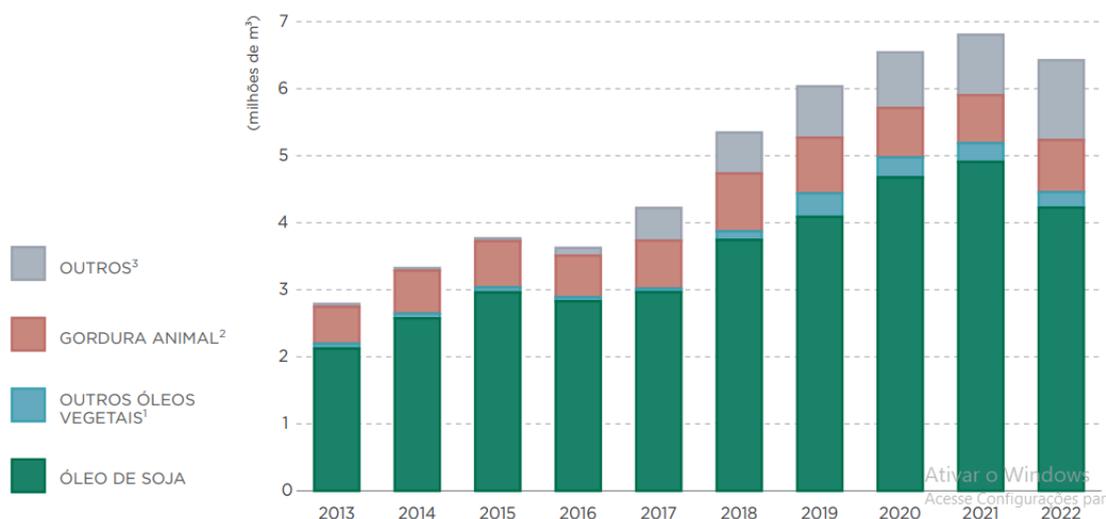
De acordo com a Lei nº 11.097, de janeiro de 2005, o biodiesel é definido como todo combustível alternativo de origem renovável que ofereça benefícios socioambientais ao ser utilizado na transição parcial ou total do diesel proveniente do petróleo, nos motores de ciclo diesel (ignição por compressão interna) (BRASIL, 2005). A estrutura química das matérias-primas empregadas na geração do biodiesel atua essencialmente nas características físico-químicas e na performance como combustível (Oliveira *et al.*, 2023). A escolha da matéria-prima é fundamental para análise de custo-benefício do biodiesel. Conforme Suarez (2017) a acessibilidade local, a efetividade econômica, as propriedades, os custos e os impactos ambientais são fatores preponderantes que sugeriram a seleção da matéria-prima na produção do biodiesel.

O biodiesel é preparado essencialmente por gorduras animais, vegetais e óleos vegetais. Dessa forma, no Brasil a enorme diversidade de matérias-primas para a produção de biodiesel provém das condições climáticas apropriadas para o cultivo de diversas oleaginosas e principalmente seu tamanho territorial. De acordo com o

Ministério de Minas e Energia (MME), as matérias-primas predominantes para a produção de biodiesel são os óleos vegetais, como soja, girassol, palma (dendê), algodão, amendoim, mamona, canola e gorduras animais, como gordura suína e sebo bovino.

De acordo com o Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (2023), a principal matéria-prima utilizada na produção de biodiesel foi o óleo de soja, correspondendo a 65,8% do total, seguido por outros materiais, como óleo de fritura usado e outros materiais graxos, conforme mostrado na gráfico 02.

Gráfico 02. Matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel (B100) – 2013-2022.



Fonte: ANP, 2023 (adaptado).

Ainda conforme dados da ANP, em 2022 as regiões Sul e Centro-Oeste desempenharam um papel fundamental na produção de biodiesel no Brasil, colaborando consideravelmente na matriz energética do país. Em 2023, a Região Sul foi a maior produtora de biodiesel com cerca de 2,6 milhões de m³, representando 42,4% da produção nacional, já a Região Centro-Oeste produziu 2,3 milhões de m³, correspondendo a 37,7% do total produzido. As regiões Nordeste, Norte e Sudeste apresentaram um aumento de 39,5%, 12,7% e 5,4% respectivamente em relação a 2021. Segundo Martins *et al.*, (2023), a combinação fatores como a disponibilidade de matérias-primas, infraestrutura apropriada, políticas públicas de incentivo a produção de biodiesel e leilões públicos para a comercialização do biodiesel, fazem das regiões sul e Centro-Oeste responsáveis por cerca de 80% da produção nacional de biodiesel do país.

2.3 - Óleos vegetais e residuais

Os óleos vegetais são compostos lipídicos que possuem baixa solubilidade em água, porém são compatíveis com compostos orgânicos, o que os caracteriza como substâncias solúveis em solventes orgânicos. Conforme Ramos *et al.*, (2017), a constituição dos ácidos graxos presentes nos óleos vegetais modifica consoante o clima, a espécie vegetal, processamento e o solo, essa junção de fatores influencia essencialmente nas propriedades físico-químicas e na qualidade do óleo. Esses óleos são compostos majoritariamente por triglicerídeos, que são ésteres constituídos pela incidência de três moléculas de ácidos graxos em uma molécula de glicerol.

Em conformidade com Azad *et al.*, (2021), os óleos vegetais podem ser segmentados em comestíveis e não comestíveis, ambos apresentam enorme potencial na geração de biodiesel. Os óleos comestíveis, como de canola, soja e palma, apresentam grande quantidade de ácidos graxos insaturados, característica que os tornam propícios para a alimentação, ainda que possuam maior suscetibilidade à oxidação. Todavia, os óleos não comestíveis como por exemplo mamona e jatrofa, demonstram maior estabilidade oxidativa e concomitantemente não concorrem com as culturas designadas a alimentação.

Conforme pressupostos do Departamento de Agricultura dos Estados Unidos (USDA), na temporada de 2023/24 a produção global de óleo vegetal deve alcançar a marca de 222,8 milhões de toneladas, contribuindo com um aumento de 6,5% em comparação ao ano anterior. Dentre as matérias-primas na produção dos óleos vegetais, o óleo proveniente da palma é o mais produzido em relação aos demais, com uma perspectiva de 79,5 milhões de toneladas, representando 35,7% da produção global.

Os óleos residuais de fritura (ORF) são, na maior parte, provenientes de processos efetuados em lanchonetes, cantinas, cozinhas comerciais, domésticas e industriais. Conforme dados da Associação Brasileira da Indústria de Óleos Vegetais (ABIOVE) e pelo IBGE, os brasileiros descartam inadequadamente por volta de 1 bilhão de litros de óleo de cozinha por ano. Dessa forma, o reaproveitamento do óleo de cozinha na produção de biodiesel é indispensável para minimizar os impactos ambientais. Em consonância com Saltarin (2023), o óleo residual de fritura é uma excelente alternativa para produção de biodiesel, pois além de ser um biocombustível sustentável apresenta um baixo custo de produção.

Entre os anos de 2012 a 2022, o biodiesel proveniente do óleo de fritura saiu de 17,83 milhões para 148,37 milhões de litros, em conformidade pesquisa da Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (Abiove) com base em dados da ANP, nesse período houve um crescimento de aproximadamente 700%. Os óleos residuais de fritura como fonte de matéria-prima representaram 2% do total de insumos destinados à produção de biocombustíveis (BiodieselBR, 2023).

2.4 - Métodos de produção do biodiesel

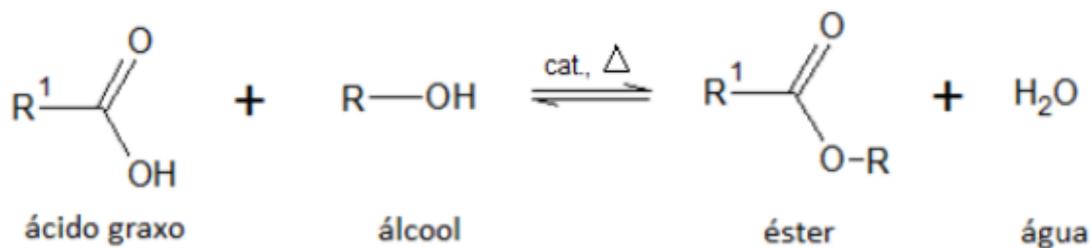
Neste tópico, serão discutidos os métodos de produção de biodiesel por esterificação, transesterificação e hidroesterificação.

2.4.1 - Esterificação

A esterificação é uma reação química no qual os ácidos graxos reagem com um álcool, normalmente com um catalisador ácidos, básicos ou com lipases no caso dos biocatalisadores, ocasionando na formação de ésteres e água como subproduto. Este processo é constantemente usado na geração de biodiesel, pois ao usar matérias-primas ricas em ácidos graxos livres, tais como óleos residuais de fritura. Consoante a Silva *et al.*, (2022), o processo de esterificação é catalisado sobretudo por ácidos fortes, como o ácido sulfúrico, no qual corrobora na conversão dos ácidos graxos em ésteres.

Conforme De Souza (2013) apud Brandão (2022), os ésteres de ácidos graxos são processados na indústria para serem empregados como matéria-prima na geração de sabões, aromatizantes, cosméticos, medicamentos, biocombustíveis, entre outros produtos. Dessa forma, a esterificação dos ácidos graxos pode suceder por processos químicos ou enzimáticos. No processo químico, a reação dos ácidos graxos com o álcool advém de um catalisador inorgânico, sob aquecimento, requerendo uma parte de energia de modo lento e não seletivo (figura 01). Já no processo enzimático usa-se enzimas associadas a biocatalisadores, permitindo a geração de produtos de qualidade superior e com temperaturas de menor intensidade.

Figura 01. Reação de esterificação do ácido graxo.



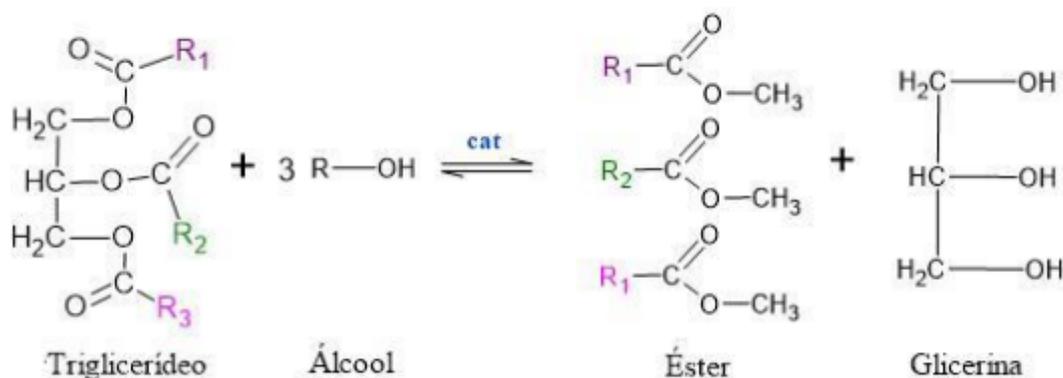
Fonte: Brandão (2022).

Segundo Santos (2011), os principais fatores que afetam a velocidade e a eficácia na conversão de ácidos graxos em ésteres na reação de esterificação são: a temperatura de reação, a quantidade de catalisador e a razão molar álcool: óleo.

2.4.2 - Transesterificação

O procedimento mais utilizado na geração de biodiesel é a transesterificação. No qual os triglicerídeos existentes nas gorduras animais ou óleos vegetais reagem com um álcool de cadeia curta (metanol ou etanol), com atuação de um catalisador básico ou ácido, resultando na geração de ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerina como produto secundário (figura 02). Na indústria o uso de catalisadores alcalinos, como o potássio ou o hidróxido de sódio é constantemente utilizado, pois sua efetividade na reação alinhada com suas taxas de conversão rápidas torna esse método uma excelente escolha. Entretanto, o aparecimento de ácidos graxos livres na matéria-prima resulta na formação de sabão, no qual reduz a eficácia do processo (Silva *et al.*, 2020).

Figura 02. Representação da reação de transesterificação.



Fonte: Nascimento, 2022.

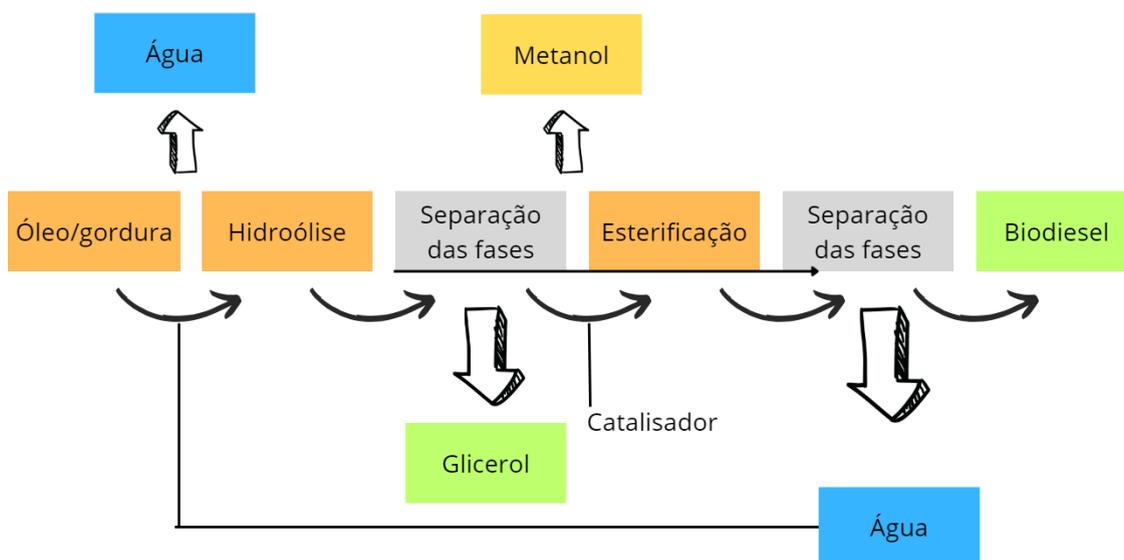
Ademais, o processo de transesterificação pode ser efetuado por meio do uso de catalisadores enzimáticos, como as lipases, que fornecem vários benefícios. As lipases possibilitam uma reação mais seletiva, promove a reutilização dos catalisadores, atuam com temperaturas e pH mais amenos, o que proporciona ao processo mais sustentabilidade e menor impacto ambiental. Entretanto, os custos ligados às enzimas e simultaneamente sua imobilização ainda retratam o desafio para a geração de biodiesel em maior escala (Costa *et al.*, 2021).

A técnica de transesterificação ocasiona a diminuição da viscosidade e concomitantemente o aumento da volatilidade do óleo, possibilitando um rendimento superior em motores a diesel. Alguns motivos devem ser levados em conta para a efetivação do processo de transesterificação, incluindo: o efeito do tempo de reação; o efeito da razão molar entre os reagentes; as variedades de catalisadores disponíveis; o impacto da temperatura que altera de acordo com os tipos de gorduras, óleos e catalisadores; a quantidade de ácidos graxos livres (AGL) presentes nos óleos e gorduras (Santin, 2013 apud Silva 2023).

2.8.3 - Hidroesterificação

Esta metodologia proporciona a utilização de qualquer tipo de matéria-prima graxa, apesar do seu grau de acidez e do teor de umidade. Ao mesmo tempo que a transesterificação geram sabões que prejudicam o rendimento do biodiesel, a hidroesterificação não demonstra essa barreira de separação, já que o subproduto desta rota é a água, como mostrado a figura 03 (Encarnação, 2007 apud Brandão 2022).

Figura 03. Processo de hidroesterificação.



Fonte: Autor.

Na primeira etapa, os triglicerídeos que compõem as gorduras animais ou os óleos vegetais são hidrolisados em ácidos graxos livres e glicerol na reação com água e temperatura e pressão elevadas. Na etapa seguinte, os ácidos graxos livres restantes são esterificados com álcool, normalmente etanol ou metanol, com a utilização de um catalisador ácido, para formação dos ésteres etílicos ou metílicos que constituem o biodiesel. A hidroesterificação proporciona vantagens relevantes em comparação a transesterificação, principalmente quando a matéria-prima apresenta altos teores de ácidos graxos livres, o que diminui os transtornos como a formação de sabões (Sousa *et al.*, 2021).

2.5 - Enzimas

Enzimas são proteínas que funcionam como catalisadores nas reações químicas, aumentando significativamente a taxa de reação. Dessa forma, atuam em quase todas as reações metabólicas que acontecem nos organismos existentes. As enzimas encontram-se ligadas aos diferentes processos bioquímicos. Agindo de forma organizada catalisando todas as reações das diversas fases que degradam as moléculas

dos nutrientes, retendo e alterando a energia química e simultaneamente compondo as macromoléculas biológicas por meio dos precursores elementares (Sanamed, 2019).

A utilização de enzimas como biocatalisadores é denominada como catálise enzimática. Essas enzimas têm o potencial de intensificar reações químicas com eminente especificidade, tornando-a intensamente usada para diferentes utilizações industriais, compreendendo a fabricação de produtos farmacêuticos e químicos (Truppo, 2017).

A habilidade de catalisar as reações enzimáticas está diretamente relacionada ao contato entre o substrato e a enzima. Nas enzimas ocorre a presença de um sítio ativo, no qual é a parte particular que a catálise acontece. O substrato se associa ao sítio ativo da enzima, ocasionando o complexo enzima-substrato. Essas ligações presentes no complexo enzima-substrato são profundamente distintas e consistem do arranjo estabelecido na região ativa (Berg *et al.*, 2016).

Os procedimentos enzimáticos vêm se evidenciando na utilização industrial por conta da capacidade de atuar de forma rápida e particular. Ademais, sua utilização diminui a matéria-prima, energia e produtos químicos em comparação a procedimentos convencionais empregados em processos químicos. Consoante a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB), as enzimas se classificam em seis grupos distintos, cada um deles com suas subclasses, contando com aproximadamente 6.000 enzimas catalogadas. Cada uma constando com o número que faz a distinção da função da enzima e simultaneamente o tipo de evento que catalisa.

Em concordância com a Grand View Research, em 2022 o mercado global de enzimas foi estimado em torno de USD 12,28 bilhões e estima-se que a taxa de crescimento anual composta no período de 2023 a 2030 tenha um aumento de 6,5%. O presente acréscimo é fomentado pela demanda progressiva por enzimas em diferentes setores industriais, no qual inclui bebidas, alimentos, detergentes e biocombustíveis.

2.6 - Lipases

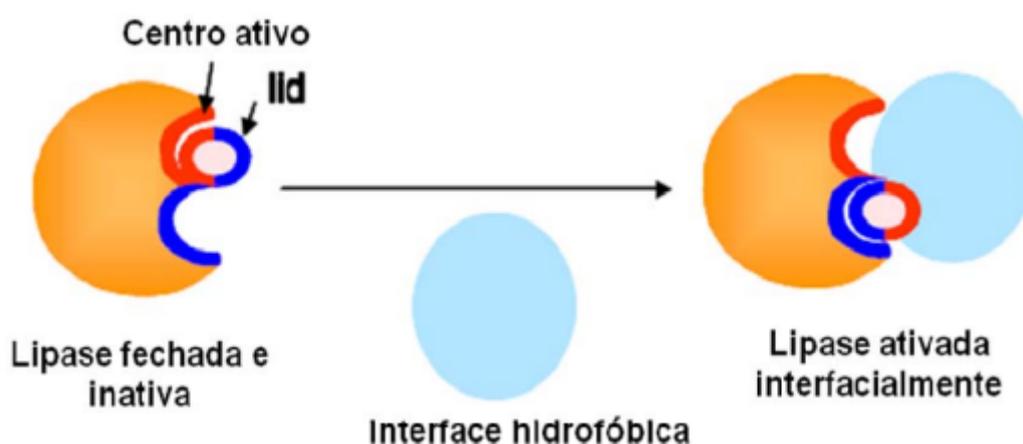
Em conformidade com o Koblitz *et al.*, (2019), as lipases (triacilglicerol éster hidrolases, EC 3.1.1.3) são esterases que catalisam a hidrólise de ligações éster preferentemente presentes em substratos insolúveis em água. São enzimas que catalisam a hidrólise de gorduras e óleos vegetais liberando ácidos graxos, monoacilgliceróis, diacilgliceróis e glicerol. São enzimas facilmente encontradas na natureza, pois

apresentam função primordial no metabolismo de lipídeos como, enzimas digestivas, metabolismo intracelular, mobilização e deposição dos tecidos de reservas energéticas.

Essas enzimas demonstram uma organização tridimensional particular e, simultaneamente, apresentam capacidade de agir em temperaturas que chegam a 70 °C e com a faixa de pH entre 4,0 e 9,0. As lipases microbianas têm grande apreciação na indústria em função da sua multiplicidade em propriedades catalíticas e particularidades por substratos, essas características fazem das lipases enzimas mais propícias em aplicabilidades em larga escala (Cortez *et al.*, 2017).

As lipases, como a Eversa® Transform 2.0, são constantemente imobilizadas em suportes hidrofóbicos por meio de um procedimento denominado ativação interfacial. Esse método possibilita que a forma aberta das lipases seja consolidada, isso significa, que em muitos casos procede na hiperativação da enzima, como mostra a figura 04. No momento que a lipase interage com uma superfície hidrofóbica, acontece uma movimentação da “tampa” da enzima, revelando o sítio ativo e proporcionando a mudança da estrutura por uma conformação mais ativa (Rodrigues *et al.*, 2019). Essa particularidade é indispensável para uma melhor efetividade catalítica da lipase em reações de esterificação e transesterificação, principalmente nos meios anídras no qual a ativação enzimática pode ser afetada (Fernandez-Lafuente *et al.*, 2020).

Figura 04. Ativação interfacial da lipase com uma interface hidrofóbica.



Fonte: Volpato (2009).

2.7 - Enzima Eversa® Transform 2.0

A enzima Eversa® Transform 2.0, produzida pela Novozymes, advinda da cepa *Thermomyces lanuginosus* cultivada em *Aspergillus oryzae*. Esta enzima foi preparada para diversas aplicabilidades, incluindo procedimentos para produção de biodiesel e outras transformações biológicas, denotando um aumento na resistência a inibidores e na estabilidade térmica, características que as tornam uma alternativa adequada para finalidade industrial (Yuen *et al.*, 2021).

A lipase Eversa® Transform 2.0 trata-se de uma enzima monomérica com cerca de 30 kDa, cuja estrutura contém uma tríade catalítica constituída por histidina, serina e ácido aspártico, um elemento regular nas lipases. Esta disposição proporciona a catalisação eficiente de técnicas como esterificação e hidrólises, indispensáveis na produção de biodiesel por meio da utilização de gorduras animais e óleos vegetais (Facin *et al.*, 2021).

Apesar da enzima Eversa® Transform 2.0 ter sido elaborada para uso maioritariamente em sua forma livre, a imobilização em suportes adequados pode propiciar vantagens relevantes, como resistência a inibidores, aumento da estabilidade e atividade. Conforme Godoy *et al.*, (2019), a imobilização em suportes hidrofóbicos melhora tanto a eficiência catalítica quanto possibilita que a enzima conserve sua atividade em circunstâncias diversas de pH e temperatura. Essa habilidade de adequação torna a Eversa® Transform 2.0 um biocatalisador favorável para reações de transesterificação e esterificação em sistemas anidros, no qual a reordenação estrutural da enzima facilita a estabilização da enzima em sua forma livre (Miranda, 2021). Dessa forma, o emprego de métodos de imobilização pode ampliar as funcionalidades da enzima Eversa® Transform 2.0 em procedimentos industriais (Facin *et al.*, 2021).

2.8 - Imobilização enzimática

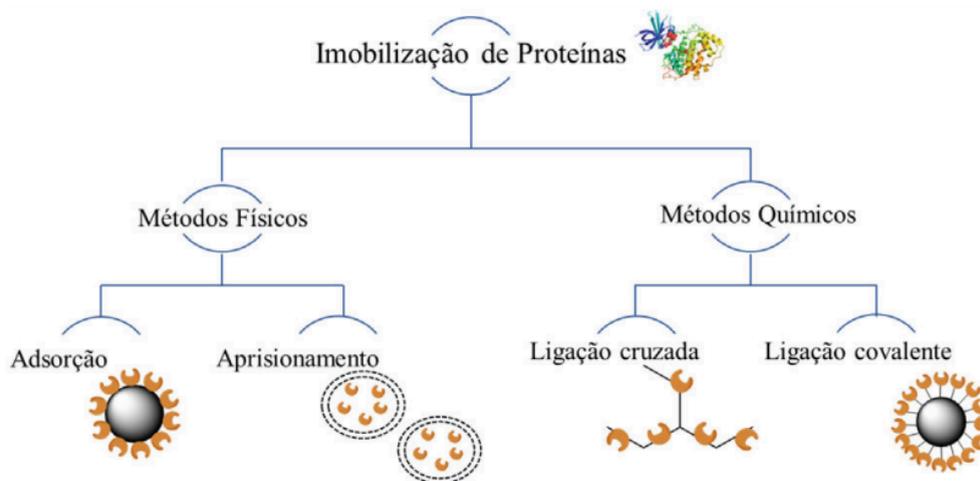
A imobilização enzimática é um procedimento fundamental na biocatálise, no qual enzimas se estabilizam em suportes sólidos. Esse procedimento viabiliza a separação das enzimas do meio reacional e juntamente aprimora a estabilidade e possibilita a reutilização das enzimas. Conforme Resende *et al.*, (2016), o custo operacional utilizando enzimas imobilizadas é reduzido, devido a possibilidade de reutilização em inúmeros ciclos funcionais.

Na produção de biodiesel a imobilização enzimática vem se revelando um método propício para potencializar os procedimentos de esterificação e

transesterificação. Essa técnica possibilita a conservação da atividade catalítica e consequentemente a seletividade em inúmeras reações. Posteriormente ao término do método, as enzimas imobilizadas conseguem ser prontamente separadas do glicerol e do biodiesel por processos como filtração ou decantação, em razão da insolubilidade no meio reacional (Khan *et al.*, 2022). Ademais, a imobilização aumenta a durabilidade das enzimas e amplifica sua resistência a inibidores, ocasionando em uma capacidade proeminente em relação às enzimas livres (Cao *et al.*, 2023). Dessa forma, o emprego de suportes apropriados na imobilização simplifica o restabelecimento das enzimas e conjuntamente prorroga sua vida útil, favorecendo economicamente a produção de biodiesel (Guimarães *et al.*, 2023).

Por conseguinte, a imobilização enzimática é empreendida por procedimentos distintos, que comumente são divididos em métodos químicos e físicos (figura 05). Nos métodos químicos, ocorre a ligação covalente entre as enzimas e o suporte, no qual proporciona uma maior estabilização, mas pode modificar a configuração da enzima e acometer sua atividade (Costa *et al.*, 2004). De outro modo, nos métodos físicos às enzimas são fixadas ao suporte por meio de métodos como adsorção, essa técnica compreende ligações fracas como ligações de interação, interações hidrofóbicas e forças de Van der Waals. Segundo Santos *et al.*, (2021), em razão de sua facilidade e conservação da estrutura conformacional da enzima essa metodologia é vastamente empregada, pois possibilita a conservação da sua atividade catalítica. Ademais, o método de adsorção simplifica a separação da enzima do meio reacional por procedimentos como filtração e decantação (Gazzoni, 2011).

Figura 05. Técnicas de imobilização de enzimas.



Fonte: SILVA, 2020.

2.9 - Nanopartículas magnéticas de ferro (NPM-Fe)

Nessa perspectiva, as nanopartículas magnéticas de ferro aparecem como uma possibilidade favorável em relação aos suportes convencionais. Dessa forma, as nanopartículas se mostram atrativas em função de suas propriedades magnéticas, baixa toxicidade, maior área superficial, tolerância superior a temperaturas e simultaneamente biocompatibilidade com elementos biológicos (Gao et al., 2022; Khan *et al.*, 2023).

As nanopartículas evidenciam características distintas em relação às moléculas em escalas macroscópicas, pois apresentam dimensões entre 1 e 100 nm. Consequentemente, de acordo com a diminuição do tamanho da partícula, a área externa por volume aumenta consideravelmente, ocasionando em propriedades químicas e físicas específicas, como eficiência catalítica e reatividade mais elevadas (Albernaz, 2021; Silva *et al.*, 2022). Esta correlação entre o volume e a área superficial é fundamental, dado que as reações químicas transcorrem principalmente na superfície da partícula, essa propriedade possibilita que as nanopartículas sejam mais eficientes em diferentes aplicações, como em medicamento e catálise (Bai *et al.*, 2023).

Essas NPMs, como a magnetita, possuem validação devido suas características particulares e funcionalidades em diferentes campos, como tecnologia ambiental e biomedicina. Ademais, essas nanopartículas são essenciais na orientação geográfica de alguns organismos naturais, como insetos e bactérias, por meio do campo magnético terrestre. A estrutura cristalina da magnetita (Fe_3O_4) se singulariza por uma ordenação de espinélio inverso, no qual os íons de ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) situam-se em variados sítios na rede cristalina, concedendo às suas características magnéticas específicas (Khan et al., 2022; Zhang *et al.*, 2021). Segundo Gao *et al.*, (2023), a propriedade dessas nanopartículas de serem manuseadas por campos magnéticos as tornam adequadas em entrega de medicamentos e separação magnética em processamento de purificação.

Existem diferentes procedimentos na produção de nanopartículas, abrangendo ligação mecânica, decomposição térmica, microemulsão, pirólise e co-precipitação. Todavia, salienta-se o método de co-precipitação por sua facilidade, efetividade e custo acessível. Esta metodologia compreende a dissolução de sais de ferro (Fe^{2+} e Fe^{3+}) em uma solução aquosa, conjuntamente com a inserção de uma base, como amônia ou hidróxido de sódio, para impulsionar a precipitação de óxido de ferro em condições

controladas. Conforme Santos *et al.*, (2021), a co-precipitação possibilita a aquisição de nanopartículas com morfologias e tamanhos particulares, atuando propriamente nas características magnéticas. É crucial o controle intransigente das condições experimentais, como temperatura e pH, para adaptar as características das nanopartículas, possibilitando a utilização em tratamento de água e biomedicina (Oliveira *et al.*, 2022). Em concordância com Lima *et al.*, (2023), a adaptabilidade do processo de coprecipitação proporciona a produção em grande quantidade, estabelecendo-o como uma alternativa prioritária na síntese de nanopartículas magnéticas.

As NPM-Fe têm se evidenciado na área da nanotecnologia como uma possibilidade a suportes para a imobilização enzimática, em função de suas especificidades. Com alta área de superfície e dimensões menores, essas nanoestruturas possibilitam uma efetividade nas interações entre enzimas e substrato, assim como durabilidade a reatividade química superior e temperaturas elevadas (Silva *et al.*, 2021; Lima *et al.*, 2022). De acordo com Pereira *et al.*, (2023), a particularidade do superparamagnetismo viabiliza a restauração das enzimas imobilizadas mediante utilização de um campo magnético, diminuindo o estresse mecânico nos biocatalisadores e conservando sua atividade. Esta associação de atributos faz das nanopartículas magnéticas uma opção propícia em procedimentos biocatalíticos, favorecendo o progresso de tecnologias mais sustentáveis e vantajosas.

As nanopartículas magnéticas de ferro evidenciam certas moderações, como a oxidação da magnetita, estabilidade reduzida, predisposição a aglomeração para reduzir a energia livre na superfície e dispersão em solventes como água. Para atenuar essa contrariedade e desenvolver a efetividade da imobilização enzimática, é fundamental transformar a superfície dessas partículas. Consoante a Santos *et al.*, (2022), o emprego de compostos como o aminopropiltriétoxissilano (APTES) viabiliza a concepção de uma camada de silicato que possibilita a ligação de grupos amina a diversas moléculas, regulando as nanopartículas em oposição a oxidação e concomitantemente impedindo a agregação.

Na utilização das nanopartículas magnéticas na imobilização enzimática, o glutaraldeído é regularmente utilizado como agente reticulante, pois proporciona a incrementação das interações moleculares. Essa mudança na superfície leva ao desenvolvimento de grupos funcionais que formam intermediários reativos, fornecendo enrijecimento na composição da enzima e facultando na estabilização em circunstâncias

intensas de temperaturas e pH (Lima *et al.*, 2023). De acordo com Oliveira *et al.*, (2021), a significativa área externa das nanopartículas magnéticas simplifica tanto a restauração das enzimas por intermédio de campos magnéticos, como contribui para ligação e características catalíticas das enzimas.

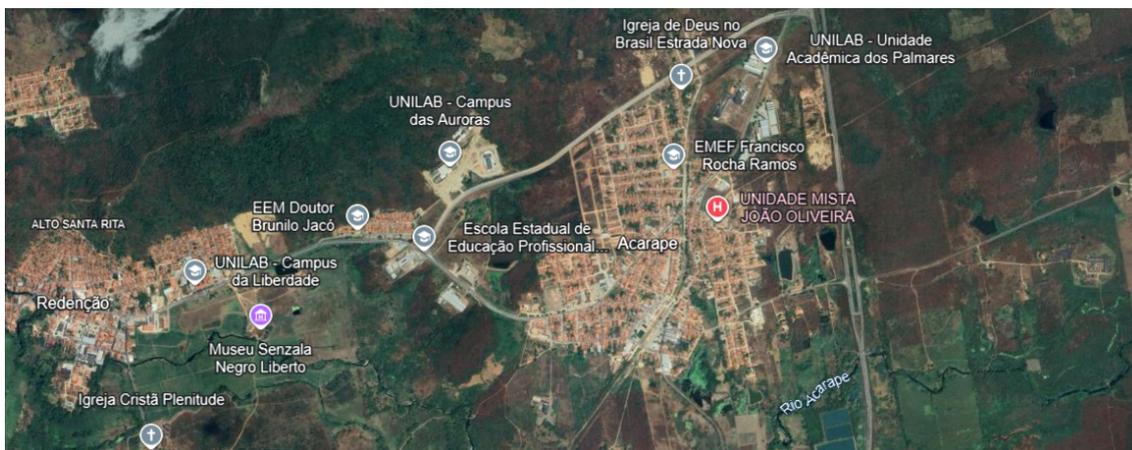
3 - METODOLOGIA

3.1 - MATERIAIS E MÉTODOS

3.1.1 - Materiais

A matéria-prima empregada como fonte de triacilglicerídeos foi o óleo residual fornecido pelo Projeto de Formação em Educação Ambiental e Ação no Manejo dos Resíduos Sólidos no Município de Acarape (PFORMA), em parceria com a Prefeitura Municipal de Acarape - Ceará (figura 06). A cidade de Acarape, localizada no Maciço de Baturité, abriga a Unidade Acadêmica dos Palmares da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB). O óleo utilizado no estudo foi coletado nas escolas municipais, fortalecendo a relação entre a comunidade e o projeto, e consequentemente possibilitando um destino sustentável ao resíduo.

Figura 06. Localização do município de Acarape (ce).



Fonte: Google Earth, coordenadas: 4°13'05''S 38°42'18''W

3.1.2 - Nanopartículas Magnéticas (NPM)

As Nanopartículas magnéticas de ferro (Fe_3O_4) foram preparadas através da metodologia de co-precipitação (Barreto *et al.*, 2012) com adaptações. A Novozyme Lantin America Ltda (Araucária, Brasil) concedeu a lipase Eversa® Transform 2.0. A Sigma-Aldrich (São Paulo, Brasil) disponibilizou o g-aminopropiltrietoxisilano (APTES), uma solução de glutaraldeído de grau II a 25% (m/v), butirato de

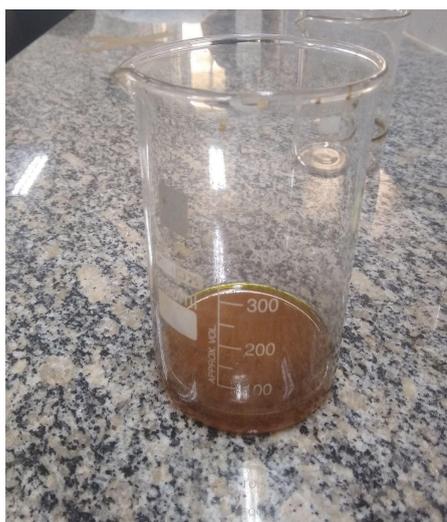
p-nitrofenila (pNPB) e p-nitrofenila (pNP). A Distribuidora Cequímica (Fortaleza, Brasil) proveu os outros reagentes de nível analítico.

3.2.1 - Síntese das Nanopartículas Magnéticas (NPM)

As nanopartículas magnéticas de ferro (Fe_3O_4) foram preparadas por meio do método de co-precipitação (Barreto *et al.*, 2012) com adequações. Realizou-se a aferição de 1,55 g de sulfato de ferroso ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) e simultaneamente 3,0 g de cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), posteriormente foram diluídos em água e concomitantemente combinadas num becker. Em seguida, condicionou a solução para pH 3 por meio do HCl a 5% (v/v) e sob agitação de 1.200 rpm com a temperatura a 80 °C por um período de 30 minutos. Sequencialmente, com as mesmas condições de agitação e temperatura foram inseridos 30 mL de NH_4OH PA por gotejamento por mais 30 min. A seguir, utilizando um ímã o precipitado foi submetido a uma série de lavagens até alcançar a neutralidade, e para retirar a água a solução foi lavada uma vez com etanol (figura 07). Para concluir, a magnetita sintetizada foi disposta no dessecador até secar integralmente.

Figura 07. Subseqüências da formação das nanopartículas magnéticas.

I)



II)



III)

IV)



I) Mistura do Sulfato Ferroso e do Cloreto Férrico; II) Substância com o NH_4OH ; III) Nanopartícula magnética após a lavagem; IV) Nanopartícula magnética pronta.

Fonte: Autor.

3.2.2 - Tratamento do suporte com g-aminopropiltriétoxissilano (APTES)

Inicialmente, foram adicionadas as nanopartículas magnéticas em 300 mL de etanol a 95%. Seguidamente, a reação é transportada até a máquina de ultrassom por um período de 1 h, conforme a figura 08. Posteriormente, foram inseridos 10 mL de APTES na reação por mais 1 h a 60 °C. Após esse intervalo, o material precipitado foi submetido a lavagem com etanol com a cooperação de um ímã e sequencialmente posto no dessecador (De Souza, 2013) com adequações.

Figura 08. Reação das NPM com g-aminopropiltriétoxissilano (APTES).



Fonte: Autor.

3.2.3 - Reticulação com solução de glutaraldeído (GLU)

Conforme metodologia de Souza (2017) as nanopartículas magnéticas (Fe_3O_4) foram submetidas em uma solução de glutaraldeído a 25% (p/v). No primeiro momento, 25 μL de glutaraldeído foram adicionadas a 10 mg de partículas de magnetita, condicionando a reação sob agitação por 2 horas a 25° C. Posteriormente, utilizando o tampão fosfato de sódio 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ (pH 7) submeteu-se os suportes a três lavagens para retirar o excedente de glutaraldeído. Segundo De Souza (2013) o suporte foi denominado NPM-GLU.

3.2.4 - Imobilização da Eversa® transform 2.0 ao suporte

O suporte de nanopartículas magnéticas que anteriormente foi tratado por APTES e reticulado com solução de glutaraldeído, foi analisado mediante seu potencial de imobilização. O procedimento envolveu o contato de 0,5 mL de solução tampão de fosfato de sódio 5 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ com pH 7 e 0,01 g de nanopartículas magnéticas de Fe_3O_4 submetidos a uma temperatura de 25° C, perante agitação constante de 45 rpm por 1 hora. Em seguida, fez-se a separação da enzima imobilizada e a solução utilizando a separação magnética. A eficiência da enzima imobilizada foi estudada, e a eficiência,

rendimento e atividades de recuperação foram medidos segundo Sheldon e Van Pelt (2013).

3.2.5 - Determinação da atividade enzimática

A atividade enzimática (80 U pNPB.g⁻¹ suporte) foi estabelecida por espectrofotometria, aplicando 50 mmol.L⁻¹ de butirato de p-nitrofenil (p-NPB) em acetonitrila. A reação foi produzida combinando 2,5 mL de tampão fosfato de sódio 25 mmol.L⁻¹, pH 7, com 50 µL de p-NPB, e 50 µL da amostra ou 10 mg de biocatalisador, condicionados a 25° C. O *p*-nitrofenol, resultado da hidrólise do *p*-NPB, foi computado por espectrofotometria usando um espectrofotômetro a 348 nm ($\epsilon = 10,052 \text{ mol L}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). A unidade de atividade (U) foi determinada como a fração de enzima para hidrolisar 1 µmol de substrato (*p*-NPB) por minuto, nas circunstâncias especificadas (Souza *et al.*, 2017). A concentração proteica foi estabelecida pelo método de Bradford e a albumina sérica bovina foi empregue como padrão.

3.2.6 - Hidrólise do óleo residual

No primeiro momento, efetuou-se a medição de 400g de óleo residual e simultaneamente averiguou-se o pH que correspondeu a um valor de 5. Após, a amostra foi submetida ao aquecimento de 90 °C sob agitação de 500 rpm. Posteriormente, por meio de gotejamento foi adicionado cuidadosamente uma solução de NaOH a 20% (m/v) até que a mistura alcançasse o pH 14 (após a adição a mistura ficou bem pastosa), de acordo com a figura 09. Em seguida, nas mesmas condições de agitação e temperatura e sob gotejamento foram adicionadas uma aquosa de H₂SO₄ a 6 mol.L⁻¹ até o pH chegar ao valor de 2 (nessa parte a mistura foi ficando límpida). Por fim, a amostra foi movida para o funil de decantação e sequencialmente submetida a várias lavagens com água destilada até o pH 6 (Brandão *et al.*, 2022) com adequações.

Figura 09. Subseqüências da hidrólise do óleo residual.

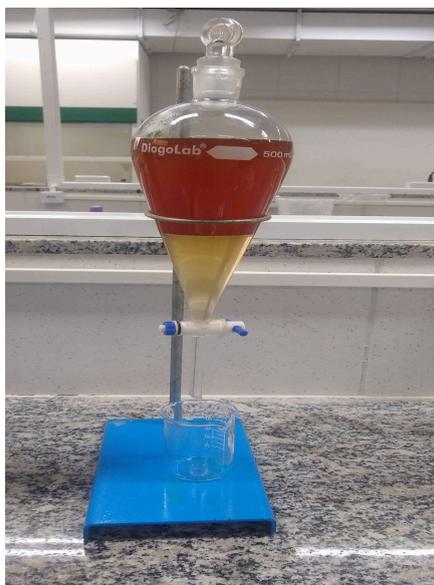
a)

b)



c)

d)



a) Adição do NaOH a 20% (m/v); b) Mistura pastosa; c) Lavagem do óleo residual; d) hidrolisado; óleo após a lavagem.

Fonte: Autor.

3.2.7 - Determinação do Teor de Umidade e densidade do óleo residual de fritura

3.2.7.1 - Teor de Umidade

A determinação do teor de umidade foi estabelecida por meio da perda de massa ao longo do processo de secagem. Adicionou-se uma amostra de óleo residual de fritura com um Becker de 250 mL vazio e simultaneamente o pesou, em seguida, inseriu-se na estufa para a secagem a uma temperatura de $105 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante um intervalo de 2 horas. Depois do resfriamento, a amostra foi pesada e a massa perdida foi registrada (Sebastião *et al.*, 2018), conforme a figura 10.

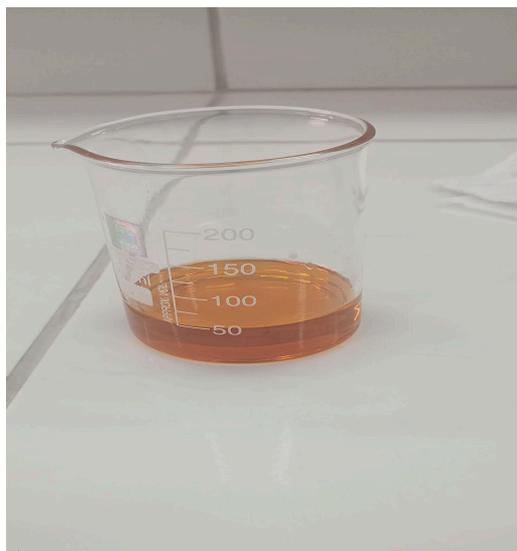
$$\text{Teor de umidade (\%)} = ((A-B) \times 100) / A$$

No qual:

A = massa da amostra

B = massa da amostra depois do aquecimento

Figura 10. Amostra após o resfriamento.



Fonte: Autor.

3.2.7.2 - Determinação da Densidade

A densidade foi estabelecida por meio da técnica de picnometria. No picnômetro vazio de 25 mL, mede-se a massa seca (M1) e registra-se em gramas. Seguidamente, adicionou-se o óleo residual de fritura até a capacidade máxima do picnômetro e a massa total (M2) foi anotada (Sebastião *et al.*, 2018), como mostra a figura 11.

$$D \text{ (g/mL)} = (M2 - M1) / 25$$

Figura 11. Determinação da densidade do óleo residual de fritura hidrolisado utilizando o picnômetro.



Fonte: Autor.

3.2.8 - Estabilidade funcional de Eversa® Transform 2.0 imobilizada

3.2.8.1 - Cinética

A cinética foi conduzida nos períodos de 2h, 4h, 6h, 8h, 16h, 24h, 48h e 72h, com o intuito de certificar o tempo de conversão com maior eficiência. Os microtubos de plástico foram completados com 0,5g de óleo de fritura, 0,01g nanopartículas magnéticas, 5 μL da enzima e 150 μL de metanol e etanol. A mistura reacional foi submetida a agitação de 150 rpm durante os períodos determinados, à temperatura de 37°C, posteriormente 0,5g do produto reacional (ésteres) em um erlenmeyer, adicionou-se 25mL de álcool comercial neutralizado, 2 gotas de fenolftaleína e titulado com KOH 0,1M. O consumo de KOH foi registrado para calcular a conversão do éster.

3.2.8.2 - Síntese

A estabilidade funcional por meio da reação de esterificação foi empreendida como mostrado na seção 3.2.8.1, através da síntese consecutiva dos ésteres de ácidos graxos (ésteres de etila e metila), utilizando 0,01g da enzima Eversa® Transform 2.0. Previamente ao ciclo, o derivado foi selecionado por magnetização e simultaneamente com hexano lavado para remover substrato não reagido e produtos (Souza, 2013). As reações foram realizadas como apresentado na 3.2.7.

4 - RESULTADOS E DISCUSSÕES

É fundamental a compreensão das características físicas de óleos vegetais e residuais para diferentes utilizações industriais, principalmente na geração de biodiesel e demais biocombustíveis. Especificações como teor de umidade e densidade influenciam justamente no desempenho e na eficácia do processo de conversão, como na transesterificação. Um entendimento aprofundado desses aspectos propicia a escolha adequada da matéria-prima e o aprimoramento das condições de processamento, favorecendo a viabilidade ambiental e econômica das tecnologias que se baseiam em óleos vegetais (Oliveira *et al.*, 2020).

4.1 - Densidade dos óleos hidrolisados

A densidade do óleo residual de fritura hidrolisado foi quantificada utilizando um picnômetro de 25 mL calibrado. Em seguida, comparou-se o resultado encontrado com os óleos de tucumã, babaçu, soja e girassol, como apresentado da tabela 02.

Tabela 02. Densidades dos óleos vegetais e residual.

Óleo	Densidade (g/mL)
Residual de fritura (1)	0,938 - 0,940
Tucumã (2)	0,913 - 0,914
Babaçu (2)	0,918 - 0,919
Soja (3)	0,914 - 0,922
Girassol (3)	0,914 - 0,916

Fonte: 1 Autor; 2 Brandão, 2022; 3 MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2006.

Dessa forma, podemos observar que os resultados encontrados no estudo da densidade apresentou valor superior ao óleo refinado de soja, girassol, babaçu e tucumã. Uma possível explicação para esse resultado é a presença de impurezas na composição do óleo residual de fritura. Morais *et al.*, (2017), em sua pesquisa em relação a densidade dos óleos vegetais mostraram que a densidade dos óleos vegetais está diretamente ligada a composição em ácidos graxos e/ou da existência de impurezas. Os autores verificaram nas amostras que incluíam óleos provenientes de bar, quiosque de

praia, lanchonete universitária e restaurante que, em média, a densidade dos óleos residuais de fritura OF1 (bar) e OF2 (quiosque de praia), apresentaram valores maiores de densidade do que o óleo refinado de soja. Dessa forma, os autores justificam que a possível causa é o elevado teor de impurezas nos óleos residuais em relação ao óleo de soja refinado.

4.2 - Teor de umidade

O teor de umidade é uma característica física essencial na qualificação dos óleos vegetais, principalmente quando se destina a geração de biocombustíveis. Conforme Kaijser (2000), a umidade é uma das características de controle mais relevantes para os óleos, uma vez que ocorre a diminuição da estabilidade com o crescimento do teor de umidade. O estudo para determinar o teor de umidade do óleo residual de fritura, validou que o óleo possui baixo teor de umidade, como demonstrado na tabela 03. Portanto, a matéria-prima apresentou baixa umidade e conseqüentemente mostrou-se adequada para serem aplicadas no experimento, uma vez que serve como modelo no favorecimento da estabilidade química do óleo aplicado, isto é, aponta que o óleo não sofreu alteração significativa no seu armazenamento. As características físicas avaliadas permitem que o óleo de fritura residual seja utilizado tecnicamente para produção de biodiesel.

Tabela 03. Umidade dos Óleos brutos.

Óleo bruto	Teor de umidade (%)
Residual de fritura (1)	$\leq 0,1$
Tucumã (2)	$\leq 0,1$
Babaçu (2)	$\leq 0,1$
Soja (3)	$\leq 0,1$
Girassol (3)	$\leq 0,1$

Fonte: 1 Autor; 2 Brandão, 2022; 3 MAPA - MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, 2006.

4.3 - Análise das reações de esterificação

Nessa pesquisa foi aplicada a enzima Eversa® Transform 2.0 para formação de ésteres na conversão do éster com a utilização dos álcoois metanol e etanol (tabela 04). Nesse procedimento aplicou-se as circunstâncias mais favoráveis de imobilização para o biocatalisador, no qual foram computados os ciclos de 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 e 72 horas em triplicata, a 37°C com agitação de 150 rpm. Portanto, observou-se que no tempo de 16 horas de reação a conversão do etanol e metanol foram de 98,64% e 97,88% respectivamente.

Tabela 04. Porcentagem da conversão do ácido oleico em oleato de etila com a utilização dos álcoois metanol e etanol.

Ciclos (h)	Conv (%). Etanol e DP.	Conv (%). Metanol e DP.
2	76,04 ± 0,92	76,99 ± 0,90
4	94,13 ± 0,90	95,46 ± 0,80
6	94,46 ± 0,11	95,92 ± 0,77
8	95,44 ± 0,80	97,28 ± 0,85
16	98,64 ± 0,77	97,74 ± 0,95
24	97,30 ± 0,80	96,81 ± 0,78
48	83,23 ± 0,77	91,43 ± 0,77
72	80,02 ± 0,95	92,52 ± 0,79

Fonte: Autor.

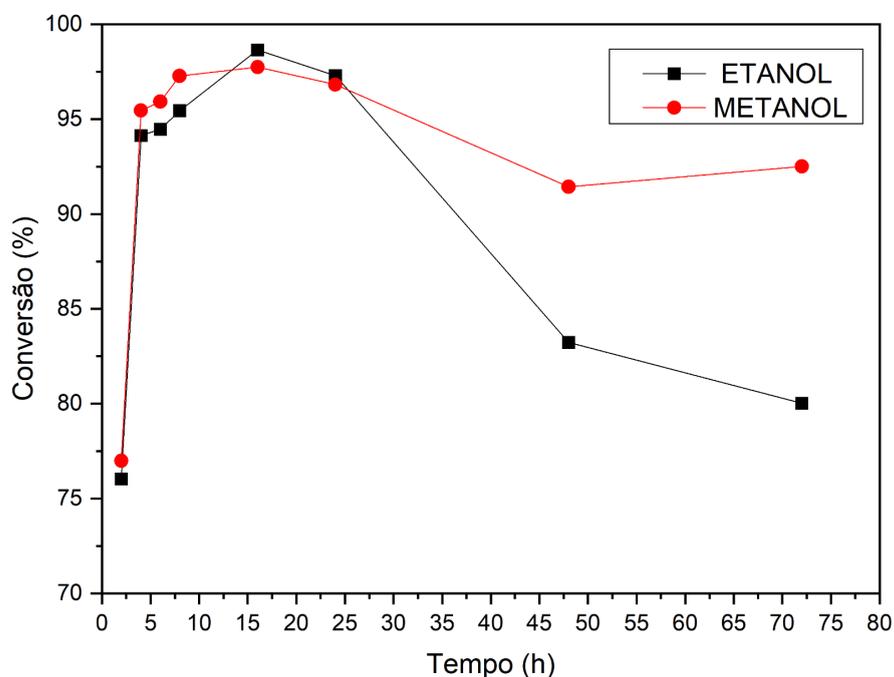
Remonato *et al.*, (2018), verificaram em seu estudo ao aferir os resultados das reações do óleo de girassol com etanol e metanol e aplicando as enzimas Eversa® Transform e Eversa® Transform 2.0 imobilizadas em Sepabeads-C18 como catalisadores em diferentes períodos reacionais. Foi constatado que tempo de 8 horas a enzima Eversa® Transform 2.0 imobilizada apresentou um bom rendimento na reação catalisada, para o etanol o desempenho foi superior a 90%, já para o metanol foi um pouco inferior a 80%. Outra vertente analisada pelos autores é que quanto menor a razão molar (álcool/óleo), maior será a taxa de geração de ésteres graxos.

Trabalhos desenvolvidos por Brandão Junior *et al.*, (2023); Sousa (2013); Santos (2023) citam a formação de ésteres tendo como base lipases imobilizadas em nanopartículas magnéticas de ferro. Brandão Junior *et al.*, (2023), estudaram a geração de biodiesel usando óleo de tucumã e babaçu utilizando como biocatalisador a enzima

Eversa® Transform 2.0 em nanopartícula magnética, os rendimentos alcançados em seu trabalho diversificaram de 68,7% a 82,2% para o babaçu e de 32,5% a 86,0% para o tucumã, reutilizando o biocatalisador por três ciclos sem perdas consideráveis. Souza (2013) em seu estudo com a lipase *Candida antarctica* CALB, em seus resultados a reação do ácido oleico em oleato de etila apresentou uma conversão de 90% em 48 horas de reação preservando 85% da atividade catalítica durante 9 ciclos. Santos (2023), em seu estudo analisou a geração de ésteres na conversão do ácido oleico em oleato de etila empregando a enzima Eversa® Transform 2.0 imobilizada em nanopartícula magnética de ferro. O biocatalisador demonstrou uma conversão de 88,1% após 16 horas de reação.

Dessa forma, conseguimos concluir com o estudo demonstrado na formação dos ésteres para produção de biodiesel, utilizando a lipase imobilizada em nanopartículas magnéticas, evidenciou resultados promissores desde o primeiro ciclo (2 horas), com conversões de 76,99% para o metanol e 76,04% para o etanol. Posteriormente, em 16 horas, foram alcançados os valores máximos de 97,74 % para o metanol e 98,64 etanol. No tempo final de 72 horas, os valores se mantiveram em 92,52% para o metanol e 80,02% para o etanol conforme a tabela 02. Além disso, observou-se que, apesar do etanol ter atingido o melhor desempenho em 16 horas, o metanol apresentou maior estabilidade quando comparados todos os ciclos operacionais como mostra a figura 12.

Figura 12. Síntese de oleato de etila utilizando ET 2.0-NPM imobilizada, com os álcoois etanol (■) e metanol (●) com carga enzimática 200 U.g⁻¹, a 37°C, 2, 4, 6, 8, 16, 24, 48 e 72 horas em agitação de 150 rpm.



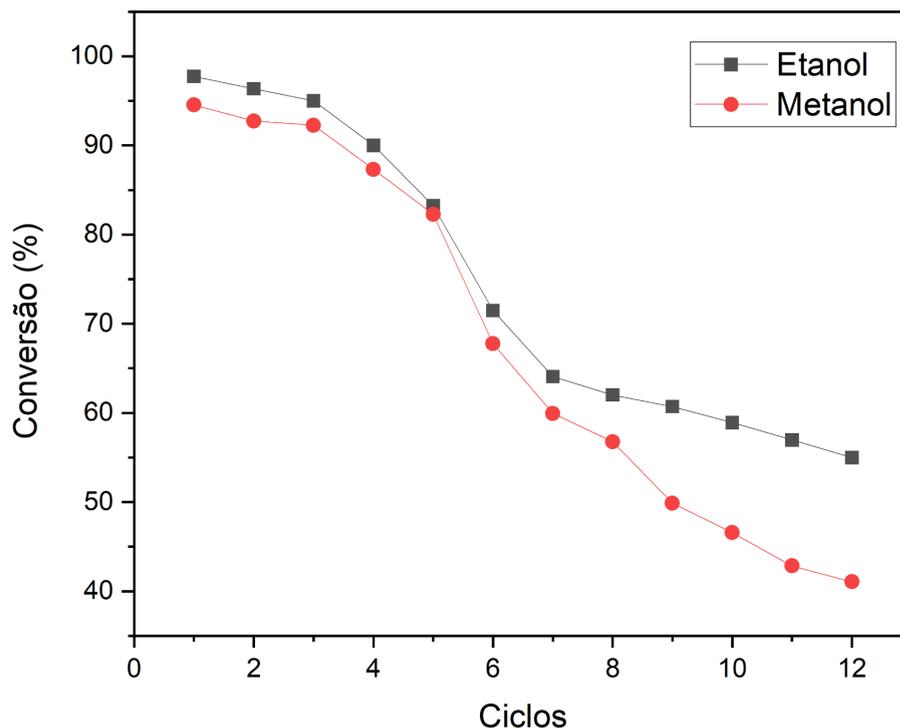
Fonte: Autor.

Pesquisas conduzidas por Remonato et al., (2018) apud Brandão (2022) mostraram que a Eversa® Transform 2.0 livre produziu rendimentos favoráveis na geração de ésteres metílicos e etílicos. Os melhores resultados obtidos na pesquisa foram aqueles utilizando o etanol, com razão molar etanol/óleo de 4:1. Um outro estudo feito por Xu *et al.*, (2019), no qual demonstrou a mobilização da Eversa® Transform 2.0 em suportes poliméricos com a utilização dos álcoois propanol, metanol e etanol na atividade catalítica com a enzima imobilizada. Constatou-se que a enzima Eversa® Transform 2.0 apresentou maior eficiência utilizando o etanol quando comparado ao metanol. Dessa forma, os estudos apresentados na tabela 04 e figura 12 condizem com a literatura.

4.4 - Estabilidade operacional

A estabilidade operacional foi analisada em 12 ciclos sucessivos de 16 horas como retratado na figura 11. A temperatura, velocidade de agitação e razão molar basearam-se nos resultados do estudo produzido por Souza, (2013).

Figura 13. Estabilidade operacional da síntese de oleato de etila empregando ET 2.0-NPM carga enzimática 200 U.g-1 , a 37°C. Com períodos de 16 horas, sob agitação de 150 rpm.



Fonte: Autor.

Nesta pesquisa, a conversão dos ésteres foi de 97,74% para o etanol e 94,55% para o metanol. Até o 5º ciclo, a conversão se conservou acima de 82% para ambos os álcoois. Já a partir do 6º ciclo, no entanto, observou-se um decaimento na conversão que variou de 71,48% a 54,99% para o etanol e 67,75% a 41,06% para o metanol. As reações foram efetuadas de maneira contínua, ao longo de 12 ciclos de 16 horas cada, no qual foi possível observar que o etanol se manteve superior em todo o experimento. Desse modo, constatou-se que a utilização de um biocatalisador capaz de ser recuperado e reaproveitado é vantajoso, visto que colabora para redução dos custos operacionais e apresenta potencial para viabilizar a produção de biodiesel pela rota enzimática ao invés da rota química tradicional.

Brandão Junior *et al.*, (2023) conduziram um estudo usando óleos de babaçu e tucumã ao longo de três períodos de 8 horas, resultando em conversões de ésteres de 82,2% e 86%, nas respectivas ordens, com o uso da ET 2.0-NPM. Constatou-se que o biocatalisador mostrou uma redução sutil na atividade catalítica depois de três ciclos, apontando uma boa estabilidade do biocatalisador ao longo do procedimento.

Santos (2023), em seu trabalho examinou a conversão do ácido oleico na produção de ésteres no decorrer de 14 ciclos de 16 horas. No primeiro até o quarto ciclos a conversão foi de 88,1% a 80%, respectivamente. Sequencialmente, com o início no 5º ciclo até os posteriores, os valores de conversão tiveram uma variação de 77% a 39,9% na geração de ésteres.

Farias (2017), estudou a imobilização de enzimas em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na produção de ésteres. O processo apresentou alta eficiência, com uma taxa de conversão de ácido butírico em Butirato de Etila de 80%. O biocatalisador se manteve estável ao longo de 11 ciclos de 8 horas cada, apontando uma taxa de conversão ainda significativa de 45% após esse período.

Razack e Duraiarasan (2016) apud Santos (2023) analisaram o reaproveitamento de lipase imobilizada de culturas mistas em esferas de alginato de cálcio 2%, depois de 20 ciclos ela conservou a atividade enzimática. Remonatto et al, (2018) constataram que, na produção de ésteres etílicos via transesterificação do óleo de girassol, a atividade da enzima Sepabeads-Eversa® Transform 2.0 diminuiu apenas 25% após três ciclos de reutilização.

4.5 - Estudos futuros

O presente estudo incluirá a análise do material em suas diferentes etapas: NPM-Fe pura, NPM-Fe com APTES, NPM-Fe com APTES e glutaraldeído e NPM-Fe com APTES e glutaraldeído e a enzima Eversa® Transform 2.0. Esses materiais foram encaminhados para serem feitos os seguintes estudos de caracterização: Microscopia eletrônica de varredura (MEV), Fluorescência de Raios-X (FRX), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raio-X (DRX) e Magnetização de Saturação (MS). Deste modo, o estudo de MS revelará o comportamento magnético nas diferentes fases estudadas; MEV e FRX viabilizarão informações sobre a morfologia do suporte e a porosidade nas várias etapas; FTIR

permitirá o estudo das bandas e suas vibrações e, por fim, DRX será usada para diferenciar a estrutura cristalina dos materiais.

5 - CONCLUSÕES

Nessa pesquisa, constatou-se que as nanopartículas magnéticas adaptadas com APTES e glutaraldeído proporcionaram maior resistência ao suporte imobilizado com a enzima ativa Eversa® Transform 2.0, sendo capaz de conservar a atividade catalítica por períodos de reações sucessivas. A cobertura com APTES conferiu às NPM-Fe proteção contra oxidação, propiciando uma interligação com os grupos aldeídos existentes no glutaraldeído.

Também foi possível verificar que o biocatalisador (ET 2.0-NPM) pesquisado no trabalho vigente, revelou-se eficiente. Ao utilizar as condições adequadas, constatou-se que a produção de ésteres por meio da utilização do etanol e metanol, em 37°C, com o biocatalisador agindo por 16 horas sucedeu em uma conversão de 98,64% e 97,88% respectivamente.

Por fim, a estabilidade operacional analisada nos períodos de reação válida a efetividade do biocatalisador (ET 2.0-NPM) na produção de ésteres. Ademais, sua capacidade de reutilização conjuntamente com a facilidade de separação por meio de campos magnéticos, tornam uma possibilidade viável aos catalisadores químicos usuais.

6 - REFERÊNCIAS

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA DE ÓLEOS VEGETAIS (ABIOVE). **Coleta e destinação correta do óleo de cozinha usado traz benefícios sociais, econômicos e ambientais.** Disponível em: <<https://www.abiove.org.br/>>. Acesso em: 13 set. 2024.

AGÊNCIA GOV. **Produção de biocombustíveis cresce no Brasil e alcança recorde histórico.** Disponível em: <<https://agenciagov.ebc.com.br/noticias/202407/producao-de-biocombustiveis-cresce-no-brasil-e-alcanca-recorde-historico-1/>>. Acesso em: 25 ago. 2024.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2023.** Brasília, 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/anuario-estatistico-2023/>>. Acesso em: 30 ago. 2024.

ALBERNAZ, L.G. Nanopartículas: propriedades e aplicações em nanotecnologia. **Revista Brasileira de Nanotecnologia**, v. 1, p. 45-58, 2021.

AZAD, A. K.; RASUL, M. G.; KHAN, M. M. K. A comprehensive review on biodiesel production from edible and non-edible oil sources. **Energy Reports**, v. 7, p. 897-912, 2021. Acesso em: 30 ago. 2024.

BAI, Y.; LIU, Y.; WANG, X.; ZHANG, T.; ZHANG, Y.; LIU, X. Avanços recentes na síntese e aplicações de nanopartículas magnéticas para administração de fármacos e catálise. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 23, n. 4, p. 1999-2015, 2023.

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.

BARROS, T. D. JARDINE, J. G. **Biodiesel.** Embrapa, [s.d.]. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agroenergia/biodiesel/>>. Acesso em: 27 jul. 2024.

BAUMEISTER, C.; KILIAN, L. Forty years of oil price fluctuations: why the price of oil may not matter. **Journal of Economic Perspectives**, v. 29, n. 1, p. 139-160, 2015.

BERG, Jeremy M.; TYMOCZKO, John L.; STRYER, Lubert. **Biochemistry**. 8th ed. New York: W.H. Freeman and Company, 2016.

BIODIESELBR. **Demanda da indústria de biodiesel por óleo de cozinha usado dispara**. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/>>. Acesso em: 13 set. 2024.

BRANDÃO JÚNIOR, J. et al. Performance of Eversa Transform 2.0 Lipase in Ester Production Using Babassu Oil (*Orbignya sp.*) and Tucuman Oil (*Astrocaryum vulgare*): A Comparative Study between Liquid and Immobilized Forms in Fe₃O₄ Nanoparticles. **Catalysts**, v. 13, n. 3, p. 571, 11 mar. 2023.

BRANDÃO JÚNIOR, J. **Síntese de biodiesel de babaçu e tucumã catalisado por enzimas lecitase e evera**. Dissertação (mestrado) – 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), 92 p. Redenção/CE – 2022.

BRASIL. **Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005**. Dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Brasília, DF, 2005. Disponível em: <http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11097.htm>. Acesso em: 30 ago. 2024.

BRASIL. Ministério de Minas e Energia. **Brasil avança no setor de biocombustíveis**. 2021. Disponível em: <<https://www.gov.br/pt-br/noticias/energia-minerais-e-combustiveis/2021/07/brasil-avanca-no-setor-de-biocombustiveis/>>. Acesso em: 27 jul. 2024.

CAO, L.; WANG, Y.; ZHANG, T.; LIU, X.; LIU, Y.; ZHANG, Y. Enzyme immobilization strategies for biodiesel production: A comprehensive review of recent developments and future directions. **Bioresource Technology Reports**, v. 18, p. 100-115, 2023.

CORTEZ, D. V.; CASTRO, H. F.; ANDRADE, G. S. S. Potencial catalítico de lipases

ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação. **Química Nova**, v. 40, n. 1, p. 85-96, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20160163/>>. Acesso em: 25 set. 2024.

COSTA, M. L.; OLIVEIRA, A. P.; JARDINE, J. G. Destinação adequada de óleo de cozinha usado: uma questão de responsabilidade socioambiental. **Química Nova na Escola**, v. 43, n. 1, p. 3-12, 2021.

COSTA, M. L.; OLIVEIRA, R. S.; SOUZA, A. P. Biocatalisadores na transesterificação: uma alternativa sustentável. **Journal of Green Chemistry**, v. 15, n. 4, p. 456-467, 2021.

COSTA, R.F.; REHMAN, S.; PACHECO, M.T.; ALI SHAH, S.Z.; GARCIA-CARRILLO, N.; HUSSAIN, M.I. Métodos de imobilização enzimática: uma revisão de avanços e aplicações em biotecnologia. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 18, n. 7, p. 743-751, 2004.

DE OLIVEIRA, V. F. 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.

DE SOUZA, M. C. M. Imobilização de lipase de *Candida Antarctica* do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres. **Vasa**, p. 88, 2013.

FACIN, B.R.; QUINTO, E.G.; VALERIO, A.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V.; FERNANDEZ-LORENTE, G. Strategies for the immobilization of Eversa® Transform 2.0 lipase and application for phospholipid synthesis. **Catalysts**, v. 11, n. 10, p. 1236, 2021.

FARIAS, M. Y. V. **Imobilização de enzimas em nanopartículas magnéticas durante a aplicação na produção de ésteres**. 2017. Monografia (Graduação em Engenharia Química) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Tecnologia, Departamento de Engenharia Química, Fortaleza, 2017.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GUISAN, J.M. Imobilização de lipases por adsorção em suportes hidrofóbicos: modulação das propriedades enzimáticas em

biotransformações em meios anidros. In: GUISAN, J.M. BOLIVAR, J.M.; LÓPEZ-GALLEGO, F.; ROCHA-MARTÍN, J. (eds.). *Métodos em Biologia Molecular*. Nova York: **Springer**, 2020. v. 2100, p. 143–158. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/978-1-07-160214-0_11/>. Acesso em: 25 set. 2024.

GAO, Y.; LIU, Y.; WANG, H.; ZHANG, X.; WANG, J.; LIU, H. Magnetic nanoparticles for wastewater treatment: A review on recent advances and future perspectives. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, n. 15, p. 22462–22476, 2022.

GARCIA, A. R.; SILVA, E. J.; OLIVEIRA, A. L.; SOUZA, A. C. Catalisadores biológicos na produção de biodiesel: uma revisão. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 16, n. 2, p. 123-134, 2019.

GAZZONI, D.L. **Biocatálise na produção de biodiesel - Parte I**. *BiodieselBR*, 2011. Disponível em: <<https://www.biodieselbr.com/noticias/colunistas/gazzoni/biocatalise-producao-biodiese-1-1-061211/>>. Acesso em: 20 set. 2024.

GODOY, M.A.; RODRIGUES, R.; SILVA, A.; OLIVEIRA, J. **Estudo da lipase Eversa® Transform 2.0 nas formas livres e imobilizadas e sua aplicação na ocorrência de transesterificação da triacetina**. 2019. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

GRAND VIEW RESEARCH. About Us. Disponível em: <<https://www.grandviewresearch.com/info/about-us/>>. Acesso em: 25 set. 2024.

GUIMARÃES, R.M.; ALMEIDA, J.R. SOUZA, C.M.; SILVA, L.H.; FERRAZ, A.M.; VIEIRA, J.M. Enzyme immobilization: advances and applications in biocatalysis. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 107-123, 2023.

HAMILTON, James D. *Oil prices and the U.S. economy*. Brookings Papers on Economic Activity, Washington, D.C.: **Brookings Institution**, v. 2009, n. 1, p. 215-261, 2009.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY. **World energy outlook 2023**. Paris: IEA,

2023. Disponível em: < <https://www.iea.org/reports/world-energy-outlook-2023/>>. Acesso em: 27 jul. 2024.

Kaijser, A. (2000) Oxidative stability and lipid composition of macadamia nuts grown in New Zealand. *Food Chemistry*, 71(1), 67–70.

KHAN, M.N.; ALI SHAH, S.Z.; BASHIR, M.; ALI SHAH, Z.; BASHIR, H.; ALI, S.; ALI, S.S. Recent advances in enzyme immobilization techniques for biodiesel production: A review. **Biotechnology Advances**, v. 60, p. 107-124, 2022.

KHAN, Y.; KHAN, M. N.; ALI SHAH, S. Z.; BAFAKEEH, O. T.; ALI SHAH, Z.; BASHIR, H.; ALI, S. S. Magnetic nanoparticles in drug delivery: A review on recent advances and future directions. **Biotechnology Advances**, v. 62, p. 107-124, 2023.

KOBLITZ, Maria Gabriela Bello. Lipases. In: KOBLITZ, Maria Gabriela Bello (Coord.). **Bioquímica dos Alimentos: Teoria e Aplicações Práticas**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2019. p. 132-164.

LIMA, F. R.; ALMEIDA, J. R.; PEREIRA, T. S. Advances in magnetic nanoparticles for enzyme immobilization: A review. **Química Nova**, v. 45, n. 4, p. 512-520, 2022.

LIMA, F. R.; ALMEIDA, J. R.; PEREIRA, T. S. Magnetic nanoparticles: Synthesis and applications in drug delivery systems. **Journal of Nanotechnology**, v. 15, n. 1, p. 12-20, 2023.

MARTINS, F. G.; SILVA, A. R.; OLIVEIRA, L. C. Biodiesel: uma alternativa sustentável ao diesel. **Revista Brasileira de Energia**, v. 22, n. 1, p. 45-58, 2020.

MARTINS, L. R.; SILVA, A. C.; PEREIRA, R. F. A Produção de Biodiesel no Brasil. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 1, p. 45-58, 2023. Disponível em: <<https://periodicos.ufba.br/index.php/rebap/article/download/17212/11322/>>. Acesso em: 06 set. 2024.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA. **Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/secretarias/petroleo-gas-natural-e-biocombustiv eis/biodiesel/pnpb/>>. Acesso em: 13 ago. 2024.

MIRANDA, L.P. **Composição e propriedades de compostos reticulados de Eversa® Transform e suas aplicações na síntese de biodiesel**. 2021. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

MORAIS, V. S.; CASTRO, E. V. R.; CARNEIRO, M. T. W. D.; BRANDÃO, G. P.; FABRI JÚNIOR, R.; SENA, D. R.. Um método simples e rápido para determinar a qualidade do biodiesel produzido a partir de óleos residuais de fritura. *Química Nova*, [S.l.], v. 40, n. 4, p. 450-456, 2017.

MOSSOBA, M. M.; KRAMER, J. K. **Official methods for the determination of trans fats**. 2. ed. [s.l.]: AOCS Press, 2010.

NASCIMENTO, J. G. A. Do. **Valorização de óleo residual por catálise enzimática suportada em nanopartículas magnéticas para produção de biodiesel**. 2022. Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente) – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Programa de Pós-Graduação em Energia e Ambiente, Redenção, 2022.

OLIVEIRA, A. P.; MAGALHÃES, A.; DELLATORE, D.; CASTRO E SILVA, E.; ANTUNES, K. C. P.; VILLA, R. D. **Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria**. *SciELO*. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/LRRfnRHHqcwhcND76vVS4BH/>>. Acesso em: 30 ago. 2024.

OLIVEIRA, J. R.; SANTOS, M. P. Propriedades físicas de óleos vegetais e sua importância na produção de biocombustíveis. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v. 8, n. 3, p. 145-158, 2020.

OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. C. Advances in the synthesis of magnetic nanoparticles: Co-precipitation and its applications. *Química Nova*, v. 45, n. 3, p. 250-259, 2022.

OLIVEIRA, R. S.; SILVA, A. C.; COSTA, M. L. Nanopartículas magnéticas em biocatálise: Melhorando a estabilidade e atividade enzimática por meio da modificação de superfícies. **Biotechnology Advances**, v. 39, p. 107-120, 2021.

PEREIRA, A. C.; MARTINS, L. F.; CUNHA, R. S. Superparamagnetic nanoparticles

for enzyme recovery: A sustainable approach. **Journal of Nanotechnology**, v. 16, n. 2, p. 101-110, 2023.

RAMOS, L. P. et al. Biodiesel: Matérias-Primas, Tecnologias de Produção e Propriedades Combustíveis. **Revista Virtual de Química**, v. 1, p. 317-369, 2017. Disponível em: <<http://static.sites.sbq.org.br/rvq.sbq.org.br/pdf/v9n1a20.pdf>>. Acesso em: 25 set. 2024.

REMONATTO, D. et al. Production of FAME and FAEE via Alcoholysis of Sunflower Oil by Eversa Lipases Immobilized on Hydrophobic Supports. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 185, n. 3, p. 705–716, 2018.

RESENDE, J.A.; PACHECO, M.T. COSTA, R.F.; REHMAN, S.; GARCIA-CARRILLO, N.; HUSSAIN, M.I.; ALI SHAH, S.Z. Imobilização de enzimas: uma revisão de métodos e aplicações em biocatálise. **Química Nova**, v. 38, n. 3, p. 399-409, 2015. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/qn/a/j9sZwCkVtBty7VXjCZ87Tdh/?format=pdf&lang=pt>>. Acesso em: 25 set. 2024.

RODRIGUES, R. C.; VIRGEM-ORTÍZ, J. J.; DOS SANTOS, J. C. S.; BERENGUER-MÚRCIA, Á.; ALCÁNTARA, A. R.; BARBOSA, O.; ORTIZ, C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Imobilização de Lipases em Suportes Hidrofóbicos: Mecanismo de Imobilização, Vantagens, Problemas e Soluções. **Avanços da Biotecnologia**, p. 746-770, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.03.002>>. Acesso em: 25 set. 2024.

SALTARIN, M. Produção de biodiesel utilizando óleo de fritura. **Anais da Conferência Brasileira de Energias Renováveis**, 2023. Disponível em: <<https://anaiscbens.emnuvens.com.br/cbens/article/download/968/968/>>. Acesso em: 13 set. 2024.

SANARMED. **Enzimas e Coenzimas: importância, propriedades e ações**. Disponível em: <<https://sanarmed.com/enzimas-e-coenzimas/>>. Acesso em: 13 set. 2024.

SANTIN, C. M. T. **Síntese de biodiesel pela transesterificação e esterificação enzimática em sistema livre de solvente em banho de ultrassom**. Tese (Doutorado). URI - Campus de Erechim. Departamento de Ciências Agrárias. Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Alimentos. 213f. Erechim, RS. Setembro de 2013.

SANTOS, A.C.; FERREIRA, A.R. Produção enzimática de biodiesel: uma revisão dos avanços recentes e perspectivas futuras. **Renewable Energy**, v. 164, p. 1234-1245, 2021.

SANTOS, J. C. S. dos. **Estudo de parâmetros nas reações de síntese enzimática de biodiesel por intermédio de fluidos supercríticos**. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará. Centro de Tecnologia. Departamento de Engenharia Química. 102 f. Fortaleza-CE, 2011.

SANTOS, K. M. DE. **Síntese do óleo de etila catalisada pela enzima Eversa® Transform 2.0 imobilizada em nanopartículas magnéticas**. 2023. Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente) – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira – UNILAB, Redenção, 2023.

SANTOS, T. R.; OLIVEIRA, J. A.; MATEUS, G. A. Modificação de superfície de nanopartículas magnéticas para imobilização de enzimas: Uma revisão. **Journal of Nanotechnology**, v. 12, n. 3, p. 45-56, 2022.

SANTOS, T. R.; OLIVEIRA, J. A.; SILVA, M. F. Synthesis and characterization of magnetic nanoparticles for environmental applications. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 8, n. 2, p. 45-56, 2021.

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

SILVA, F. B. DA et al. Preparation and Characterization of Cellulose Triacetate as Support for Lecitase Ultra Immobilization. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 22, n.

11, 2017.

SILVA, J. R.; ALMEIDA, F. P. Reações de transesterificação na produção de biodiesel. **Revista de Química Industrial**, v. 25, p. 123-135, 2020.

SILVA, J. R.; OLIVEIRA, A. P.; COSTA, M. L. Imobilização de lipases em nanopartículas magnéticas para a produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 46, n. 5, p. 123-135, 2023.

SILVA, M. P. F. **Síntese de biodiesel a partir do óleo de pequi por meio de biocatalisadores enzimáticos contendo CALB e Eversa® Transform 2.0 imobilizadas em nanopartículas magnéticas**. 2023. Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente) – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Programa de Pós-Graduação em Energia e Ambiente, Redenção, 2023.

SILVA, R. A.; ALMEIDA, D. M.; FERREIRA, J. P. Impactos ambientais da utilização de biodiesel como combustível. **Revista Brasileira de Engenharia Ambiental**, v. 17, n. 2, p. 123-132, 2021.

SILVA, R. A.; ALMEIDA, D. M.; PEREIRA, C. F. Efeitos dos catalisadores na produção de biodiesel: uma revisão. **Journal of Cleaner Production**, v. 256, p. 120-130, 2021.

SILVA, R. A.; OLIVEIRA, L. C.; PEREIRA, C. F. Hidrólise enzimática de óleos residuais para produção de biodiesel. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 19, n. 1, p. 45-56, 2022.

SILVA, R. M.; ANDRADE, L. F. Reações de esterificação na produção de biodiesel: uma revisão. **Revista Brasileira de Química Aplicada**, v. 10, n. 2, p. 45-58, 2022.

SILVA, T. R.; OLIVEIRA, J. A.; MATEUS, G. A. Nanopartículas magnéticas: Propriedades e aplicações na imobilização enzimática. **Revista Brasileira de Engenharia Química**, v. 9, n. 1, p. 34-45, 2021.

SILVA, T.R.; MATEUS, G.A.; OLIVEIRA, J.C.; GARCIA, R.M. Propriedades e aplicações de nanopartículas na medicina e na indústria. **Química Nova**, v. 2, p. 123-134, 2022.

SOUZA, M. C. M. DE 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, 1 Jul. 2017.

SOUZA, R. M.; LIMA, F. P. Avanços na produção de biodiesel por hidroesterificação. **Revista Brasileira de Biotecnologia**, v. 15, n. 2, p. 123-134, 2021.

SUAREZ, P. A. et al. Um Estudo de Matérias-Primas para Fabricação de Biodiesel. **Educação, Gestão e Sociedade**, v. 7, n. 27, p. 1-10, 2017. Disponível em: <https://uniesp.edu.br/sites/_biblioteca/revistas/20170919090714.pdf/>. Acesso em: 30 ago. 2024.

TRUPPO, M. B. Biocatalisadores: Desenvolvimento na pesquisa brasileira. **Anais do Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2017**. Disponível em: <<https://eventos.utfpr.edu.br/sicite/sicite2020/paper/viewFile/7591/3118/>>. Acesso em: 13 set. 2024.

UNIÃO INTERNACIONAL DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR. **Comitê de Nomenclatura da União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular**. Disponível em: <<https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/>>. Acesso em: 25 set. 2024.

VOLPATO, G. **Produção, purificação e imobilização de lipases de Staphylococcus warneri EX17 produzidas em glicerol**. Porto Alegre: UFRGS, 2009.

XU, L.; ZHANG, Y.; LI, H.; WANG, J. Immobilization of Eversa® Transform 2.0 on polymer supports for biodiesel production: effect of methanol, ethanol, and propanol on catalytic activity. **Journal of Biotechnology and Bioengineering**, v. 46, n. 5, p. 512-520, 2019.

YUEN, C.M.; ENG-SENG, C.; PIN, S.C. Produção de biodiesel catalisada pela enzima líquida de baixo custo Eversa® Transform 2.0: efeito do conteúdo de ácidos graxos livres na tolerância à lipase metanol e no modelo cinético. **Fuel**, 2021. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.119266/>>. Acesso em: 20 set. 2024.

ZHANG, L.; LIU, Y.; WANG, X.; LIU, Y.; ZHANG, T. Synthesis and characterization

of magnetic iron oxide nanoparticles for biomedical applications. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 21, n. 5, p. 2456-2463, 2021.