



**UNIVERSIDADE DA INTEGRAÇÃO INTERNACIONAL DA LUSOFONIA
AFRO-BRASILEIRA
INSTITUTO DE ENGENHARIAS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL (IEDS)
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ENERGIAS**

SONALLI VIEIRA DE PAULA

**PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO RESIDUAL COM O USO DA
ENZIMA CALB SUPORTADA EM NANOPARTICULAS MAGNÉTICAS.**

REDENÇÃO

2024

SONALLI VIEIRA DE PAULA

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO RESIDUAL COM O USO DA ENZIMA
CALB SUPORTADA EM NANOPARTICULAS 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 Integração 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: 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.

Paula, Sonalli Vieira de.

P324p

Produção de biodiesel a partir de óleo residual com o uso da enzima CALB suportada em nanopartículas magnéticas / Sonalli Vieira de Paula. - 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.

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

Coorientador: Dra. Juliana de França Serpa.

1. Biodiesel. 2. Imobilização. 3. Nanopartículas magnéticas.
4. Candida antarctica (CALB). I. Título

CE/UF/BSCA

CDD 665.5383

SONALLI VIEIRA DE PAULA

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO RESIDUAL COM O USO DA ENZIMA
CALB SUPORTADA EM NANOPARTICULAS 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:

BANCA EXAMINADORA

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

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)

*Ao meu pai, Assis, que, mesmo ausente, continua
a ser uma fonte de inspiração em minha vida.*

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus por ter me dado forças e sustentado até aqui, especialmente nos momentos mais desafiadores em que quase desisti. Aos meus pais, Assis e Helena, sou eternamente grato pelo apoio incondicional, pelo amor e pelos incentivos que me deram. A meu pai, Assis, que infelizmente partiu antes de ver este momento realizado, dedico uma gratidão especial. Mesmo ausente fisicamente, ele continua presente em cada conquista, e sua memória se mantém viva como uma fonte de força e inspiração.

Agradeço também à minha irmã, Samárya, uma fonte constante de inspiração, e à minha madrinha, Janete, que sempre me amparou e cuidou de mim como uma mãe.

Sou profundamente grato a todos os professores do Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável (IEDS), especialmente àqueles que foram além de suas obrigações acadêmicas e se dedicaram a me apoiar de maneiras que nunca esquecerei: meu orientador de estágio, Prof. Dr. Gustavo Henn; a querida Prof. Dra. Ada Amélia; o Prof. Dr. George Mamede; o Prof. Dr. Sabi Bandiri; e o Prof. Dr. Alisson Guimarães. Cada um deles, com gestos e apoio singulares, ofereceu não apenas conhecimento, mas também encorajamento e orientação que fizeram toda a diferença na minha jornada.

Aos amigos de vida, que acompanharam cada fase da minha jornada, agradeço por estarem ao meu lado, vendo de perto todas as minhas mudanças ao longo dos anos. Agradeço também aos amigos que fiz na UNILAB, pois, embora muitos tenham passado por mim, alguns se tornaram essenciais em momentos marcantes da graduação.

Minha orientadora, Prof. Dra. Maria Cristiane Martins de Souza, merece meu sincero agradecimento pelo compromisso e por me guiar com firmeza. A minha co-orientadora, Dra. Juliana de França Serpa, sou muito grato por toda sua orientação e dedicação em cada etapa do desenvolvimento deste trabalho, muitas vezes me cobrando para alcançar o melhor resultado. Ao Prof. José Cleiton Sousa dos Santos pelo apoio indispensável, especialmente na obtenção e realização das análises das amostras permitidas ao desenvolvimento da pesquisa. Sua dedicação e desenvolvimento em contribuições a pesquisa científica foram um grande motivador e desenvolvimento para o aprimoramento deste trabalho. Também agradeço aos membros da banca, por suas valiosas contribuições.

Ao Grupo Genes e às colegas do laboratório, sou grata pelas trocas enriquecedoras durante o período de testes, que ampliaram meu conhecimento e fortaleceram meu aprendizado. Ao Sr. Gerson Siqueira, que tanto me ensinou durante o estágio, e a todos os funcionários

da UNILAB, que tornam nosso dia a dia acadêmico possível, deixo também meus sinceros agradecimentos.

Este trabalho é dedicado a todos vocês, que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho.

“É justo que muito custe o que muito vale.”

(Santa Teresa D’Avila)

RESUMO

O biodiesel, uma alternativa sustentável aos combustíveis fósseis, tem recebido crescente atenção devido à sua menor emissão de poluentes e ao aumento da demanda por fontes de energia renovável. Contudo, os métodos convencionais de produção desse biocombustível enfrentam desafios, como o uso de matérias-primas nobres e processos químicos agressivos. Nesse contexto, este estudo teve como objetivo avaliar a viabilidade da produção de biodiesel a partir de óleos residuais, empregando a lipase B de *Candida antarctica* (CALB) imobilizada em nanopartículas magnéticas. Para isso, foi investigada a eficiência do processo de transesterificação utilizando metanol e etanol, com foco em desenvolver uma rota enzimática mais sustentável e econômica. A metodologia consistiu na síntese de nanopartículas magnéticas funcionalizadas com APTES e glutaraldeído para imobilizar a lipase, buscando aprimorar a estabilidade e a reutilização do biocatalisador. As reações de transesterificação foram realizadas sob condições controladas de temperatura e agitação, utilizando proporções variadas de óleo residual, álcool e biocatalisador. A conversão dos triglicerídeos em ésteres metílicos e etílicos foi monitorada por cromatografia gasosa. Os resultados confirmaram que a lipase imobilizada apresentou alta atividade catalítica, alcançando conversões superiores a 90% em ambas as reações. Com etanol, a taxa de conversão foi de 90,64% após 72 horas, enquanto o metanol resultou em 94,64% no mesmo período. Além disso, os testes de reutilização mostraram uma leve redução na atividade enzimática após cinco ciclos, evidenciando boa estabilidade do biocatalisador. A aplicação de nanopartículas magnéticas como suporte para a imobilização da lipase CALB revelou-se uma estratégia eficaz para a produção de biodiesel a partir de óleos residuais. A elevada atividade catalítica e a estabilidade demonstradas pelo biocatalisador reforçam o potencial dessa tecnologia para uso industrial. Pesquisas futuras devem focar na otimização das condições de reação e na avaliação da viabilidade do processo em larga escala, promovendo a produção sustentável de biodiesel. Este trabalho contribui para o avanço de tecnologias inovadoras em biocombustíveis e para a sustentabilidade ambiental.

Palavras-chave: Biodiesel, Imobilização, Nanopartículas Magnéticas, CALB.

ABSTRACT

Biodiesel, a sustainable alternative to fossil fuels, has been receiving growing attention due to its lower pollutant emissions and the increasing demand for renewable energy sources. However, conventional production methods for this biofuel face challenges, such as the use of noble raw materials and aggressive chemical processes. In this context, this study aimed to evaluate the feasibility of biodiesel production from waste oils, employing lipase B from *Candida antarctica* (CALB) immobilized on magnetic nanoparticles. For this purpose, the efficiency of the transesterification process was investigated using methanol and ethanol, focusing on developing a more sustainable and cost-effective enzymatic route. The methodology consisted of synthesizing magnetic nanoparticles functionalized with APTES and glutaraldehyde to immobilize the lipase, aiming to enhance the stability and reusability of the biocatalyst. Transesterification reactions were carried out under controlled temperature and agitation conditions, using varied proportions of waste oil, alcohol, and biocatalyst. The conversion of triglycerides into methyl and ethyl esters was monitored by gas chromatography. The results confirmed that the immobilized lipase exhibited high catalytic activity, achieving conversions above 90% in both reactions. With ethanol, the conversion rate was 90.64% after 72 hours, while methanol resulted in 94.64% within the same period. Additionally, reuse tests showed a slight reduction in enzymatic activity after five cycles, demonstrating good biocatalyst stability. The application of magnetic nanoparticles as a support for immobilizing CALB lipase proved to be an effective strategy for biodiesel production from waste oils. The high catalytic activity and stability demonstrated by the biocatalyst reinforce the potential of this technology for industrial use. Future research should focus on optimizing reaction conditions and assessing the feasibility of scaling up the process, promoting sustainable biodiesel production. This work contributes to advancing innovative biofuel technologies and environmental sustainability.

Keywords: Biodiesel. Immobilization. Magnetic Nanoparticles. CALB.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Evolução da produção de Biodiesel (B100)-2014-2023	19
Figura 2 – Evolução da produção de Biocombustíveis no mundo	20
Figura 3 – Esquema de uma Reação de Transesterificação	22
Figura 4 – Esquema de uma Reação de Esterificação	23
Figura 5 – Hidrólise Enzimática Catalisada por Lipase	26
Figura 6 – Ilustração da Alteração Conformacional da Lipase	27
Figura 7 – Esquema de uma Reação de Esterificação	28
Figura 8 – Mapa do acarape com localização da prefeitura e Unilab (Auroras)	30
Figura 9 – Diagrama do Processo de Imobilização Enzimática.	32
Figura 10 – Óleo de Fritura Residual Sem Tratamento.	34
Figura 11 – Processo de Hidrólise do Óleo.	35
Figura 12 – Óleo Analisado em Picnômetro para Determinação de Densidade.	37
Figura 13 – Óleo Após Exposição a Período de Secagem em Estufa.	38
Figura 14 – Estudo Comparativo da Cinética de Conversão de Etanol e Metanol.	42
Figura 15 – Análise da Variabilidade Temporal através do Desvio Padrão.	44
Figura 16 – Análise Comparativa da Conversão de Etanol e Metanol ao Longo de Oito Ciclos de Reuso.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Densidade de óleos a 25 °C	40
Tabela 2 – Teor de umidade em diferentes óleos brutos.	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	OBJETIVO GERAL	16
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	16
2	REFERENCIAL TEORICO	17
2.1	Biocombustível no Brasil	17
2.2	Biodiesel na Matriz Energética Brasileira	18
2.3	Panorama dos Biocombustíveis	20
2.4	Base de Produção	21
2.5	Transesterificação	21
2.6	Esterificação	22
2.7	Imobilização	24
2.8	Nanopartículas	25
2.9	Lipases	26
2.10	Enzima CALB	28
3	METODOLOGIA	29
3.1	Materiais e Métodos	29
3.2	Síntese das Nanopartículas Magnéticas (NPMs)	30
3.3	Preparação do Suporte Utilizando g-Aminopropiltriétoxissilano (APTES)	31
3.4	<i>Ativação do Suporte Utilizando Glutaraldeído (GLU)</i>	31
3.5	<i>Imobilização</i>	32
3.6	<i>Avaliação da Atividade Enzimática</i>	33
3.7	Tratamento Preliminar do Óleo Residual de Frituras (ORF)	34
3.8	<i>Processo de Hidrólise de Óleo Residual</i>	35
3.9	Análise do Índice de Acidez (IA)	36
3.10	Quantificação da Densidade	37
3.11	Análise Quantitativa da Umidade	38
3.12	<i>Síntese do Óleo Residual Hidrolisado</i>	39
3.13	<i>Avaliação da Estabilidade Operacional da Lipase B (CALB) de Candida Antarctica Imobilizada</i>	39
3.13.1	<i>Cinética</i>	39

3.13.2	<i>Síntese</i>	39
4	RESULTADOS	40
4.1	Quantificação da Densidade	40
4.2	Análise Quantitativa da Umidade	41
4.3	Análise das Reações de Esterificação	42
4.3.1	<i>Estabilidade Operacional</i>	45
4.4	Resultados Futuros	47
5	CONCLUSÃO	48
	REFERÊNCIAS	49

1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a crescente demanda por energia e as preocupações com a poluição ambiental intensificaram a busca por fontes renováveis que possam substituir os combustíveis fósseis convencionais. Dentre essas fontes, o biodiesel destaca-se como uma alternativa importante, sendo produzido de forma relativamente simples por meio da transesterificação de triglicerídeos ou esterificação de ácidos graxos de cadeia longa com álcoois simples, como metanol ou etanol, na presença de um catalisador. Comparado aos combustíveis fósseis, o biodiesel apresenta vantagens significativas, como biodegradabilidade, baixa toxicidade e emissões mínimas de enxofre e gases de efeito estufa durante sua queima (LI; XIE, 2024).

No Brasil, a introdução do biodiesel na matriz energética teve início experimental em 2004, avançando para uma mistura voluntária de 2% entre 2005 e 2007, quando a obrigatoriedade foi estabelecida pela Lei nº 11.097/2005. A partir de 2008, a adição de 2% de biodiesel (B2) ao diesel fóssil tornou-se obrigatória, com o percentual de mistura crescendo gradualmente. Em 2021, variações nas resoluções do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) estabeleceram índices entre 10% e 13%, até a recente ampliação para 14% em março de 2024, com uma nova elevação para 15% prevista para 2025. As especificações do biodiesel também foram aprimoradas, alinhando a qualidade do produto às normas internacionais e às necessidades do mercado nacional, garantindo segurança e previsibilidade para o setor (ANP, 2024).

De acordo com o Balanço Energético Nacional (BEN) 2024, ano-base 2023, o Brasil ocupa uma posição de destaque no consumo de energia, com 49,1% proveniente de fontes renováveis. O consumo de biodiesel, por sua vez, aumentou 19,2% em 2023, em parte devido à elevação do percentual de mistura ao diesel mineral para 12% (B12) a partir de abril de 2023. Consequentemente, o setor de transportes no Brasil apresentou uma matriz energética composta por 22,5% de fontes renováveis em 2023, um aumento em relação aos 22% registrados no ano anterior. O percentual de mistura obrigatório no diesel proveniente do petróleo foi de 12% durante todo o ano de 2023, em comparação aos 10% de 2022, após variações que incluíram 13% em março e 12% em setembro de 2022.

O biodiesel é composto por ésteres monoalquílicos obtidos através da transesterificação ou esterificação de óleos vegetais ou ácidos graxos provenientes de gorduras animais, utilizando um álcool primário. Na produção industrial, o metanol é geralmente preferido ao etanol devido ao seu custo mais baixo e maior reatividade. A síntese pode ser realizada com o uso de catalisadores, que podem ser químicos ou enzimáticos (de Oliveira *et al.*, 2020).

O óleo de fritura residual (OFR) têm sido considerado uma alternativa promissora na produção de biodiesel devido ao seu baixo custo e alta disponibilidade. Além disso, o uso de OFR reduz a competição com a demanda por alimentos. O custo do OFR é de duas a três vezes menor que o dos óleos vegetais refinados, além de diminuir os custos de remoção e tratamento desse resíduo. Contudo, o OFR contém compostos adicionais além dos triacilgliceróis, como água, ácidos graxos livres (AGL), compostos polares e compostos não voláteis. A presença de AGL no OFR pode promover reações secundárias indesejáveis, como a saponificação, que consome o catalisador e prejudica a eficiência da produção de biodiesel (FONSECA *et al.*, 2019).

Com o crescente foco na sustentabilidade, a indústria química tem buscado alternativas para processos mais ecológicos. Os catalisadores químicos, fundamentais em muitas reações industriais, apresentam desafios devido ao impacto ambiental. Nesse contexto, os biocatalisadores, como as enzimas, emergem como uma alternativa eficiente e ecológica, contribuindo para a minimização de reações indesejáveis (SOUZA, 2013). A nanobiotecnologia tem impulsionado o desenvolvimento de nanocatalisadores enzimáticos, com a imobilização de enzimas em nanomateriais, especialmente nanopartículas magnéticas, se destacando como uma estratégia promissora. Essa abordagem melhora a estabilidade das enzimas, facilita sua recuperação e reutilização, além de permitir reações em condições mais brandas, reduzindo o impacto ambiental. A alta área superficial das nanopartículas favorece o contato entre a enzima e o substrato, enquanto suas propriedades magnéticas facilitam a separação do catalisador após a reação (CAVALCANTI, 2020).

As lipases, conhecidas como triacilglicerolacil-hidrolases (EC 3.1.1.3), pertencem à subclasse 1 das enzimas hidrolíticas de classe 3 devido à sua especificidade para ligações éster de ácidos carboxílicos. Essas enzimas fazem parte da família das hidrolases, que catalisam a quebra de ligações éster em ácidos carboxílicos. Sua função natural é hidrolisar triacilgliceróis, transformando-os em diacilgliceróis, monoglicerídeos, ácidos graxos e glicerol (SILVA, 2023).

A imobilização de lipases tem se mostrado uma estratégia eficaz para aumentar sua estabilidade, reciclabilidade e reutilização, especialmente quando associada a nanopartículas magnéticas. A imobilização enzimática em suportes sólidos, como as nanopartículas magnéticas, otimiza a recuperação da lipase e melhora o desempenho da reação de transesterificação, com custos operacionais mais baixos (XIE; HUANG, 2020).

O intuito deste estudo é aproveitar óleos residuais de fritura (ORFs) para a produção de biodiesel, utilizando a catálise enzimática com a lipase CALB imobilizada. Após a realização do

processo, os resultados serão analisados e comparados com os dados encontrados na literatura..

1.1 OBJETIVO GERAL

Este estudo tem como foco a produção de biodiesel através da rota enzimática, utilizando óleo residual de fritura. A pesquisa visa comparar os rendimentos dos produtos obtidos após o óleo residual ser submetido à hidrólise química e reagido com álcoois primários como metanol e etanol, empregando a enzima lipase B de *Candida antarctica* imobilizada em nanopartículas magnéticas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Revisão bibliográfica sobre a produção e utilização de biodiesel tanto no contexto nacional quanto internacional;
- Desenvolver e caracterizar nanopartículas de ferro por meio do processo de co-precipitação, visando a imobilização da lipase *Candida antarctica* B ;
- Investigação da modificação da superfície de nanopartículas magnéticas de ferro usando 3-aminopropil-triethoxysilane (APTES) e glutaraldeído (GLU) para a posterior fixação de enzimas;
- Fixação das enzimas em nanoestruturas magnéticas através de ligação covalente;
- Realização das reações de esterificação de óleo residual hidrolisado, utilizando metanol e etanol como álcoois primários, na presença da enzima lipase B de *Candida antarctica* (CalB) imobilizada em nanopartículas magnéticas;
- Avaliação da perda de atividade dos biocatalisadores ao longo de ciclos repetidos de reutilização;
- Comparação dos rendimentos das sínteses dos ésteres produzidos e análise dos resultados mais promissores.

2 REFERENCIAL TEORICO

2.1 Biocombustível no Brasil

Os motivos para o uso de biocombustíveis, como etanol e biodiesel, variam de nação para nação e contexto histórico. A redução da dependência do petróleo, a diminuição das emissões de gases poluentes e o controle dos gases de efeito estufa estão entre as principais motivações para a adoção dessas alternativas energéticas, que contribuem para a mitigação do aquecimento global. No Brasil, o biodiesel tem ganhado relevância não apenas como uma alternativa para reduzir a importação de diesel, mas também como parte de uma estratégia que visa fortalecer a agricultura familiar e promover a inclusão social (LEITE; LEAL, 2007).

O fortalecimento da agricultura familiar e sua integração na cadeia produtiva de biocombustíveis no Brasil envolve medidas importantes. O governo implementou o Selo Biocombustível Social, exigindo que 50% dos insumos para biodiesel venham da agricultura familiar, promovendo um mercado mais acessível para pequenos agricultores. (Erlich, 2024). Além disso, políticas públicas oferecem apoio financeiro e técnico, como linhas de crédito e capacitação, para melhorar a produtividade e qualidade das colheitas, gerando novas fontes de renda para esses agricultores (Agência Senado, 2024).

A promoção da inclusão social é um componente-chave, ao reduzir desigualdades nas áreas rurais e capacitar agricultores familiares, como no projeto de Xerém. Isso fortalece a posição social e econômica dessas famílias, permitindo uma maior participação nas decisões comunitárias. Além disso, a agricultura familiar, que é fundamental para a segurança alimentar no Brasil, passa a contribuir tanto para a produção de alimentos saudáveis quanto para a sustentabilidade energética por meio do cultivo de biocombustíveis. Essas iniciativas criam um ciclo positivo, beneficiando agricultores e a sociedade, ao promover tanto o desenvolvimento econômico quanto a inclusão social (Ministério do Desenvolvimento e Assistência Social, Família e Combate à Fome, 2024).

Além disso, o uso de matérias-primas renováveis, como óleos vegetais e resíduos como óleo de fritura, em processos de produção de biodiesel, é uma maneira de minimizar impactos ambientais, contribuindo para o desenvolvimento sustentável (Leite & Leal, 2024).

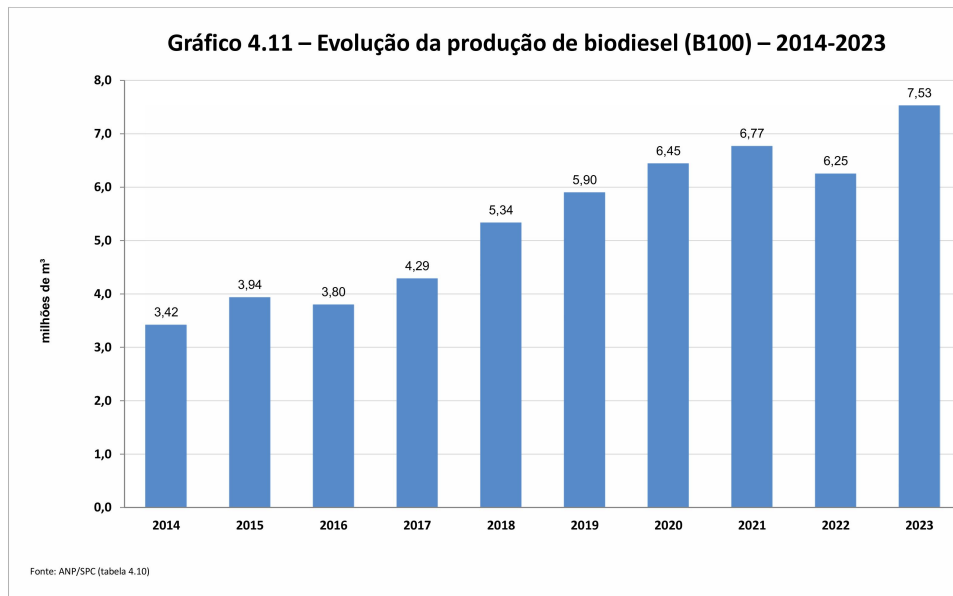
2.2 Biodiesel na Matriz Energética Brasileira

O biodiesel é um combustível renovável produzido através de um processo químico chamado transesterificação. Nesse processo, os triglicerídeos presentes em óleos vegetais e gorduras animais reagem com um álcool primário, como metanol ou etanol, resultando em dois subprodutos: éster e glicerina. O éster, após passar por etapas de purificação para atender aos padrões de qualidade, pode ser comercializado como biodiesel, sendo principalmente utilizado em motores de ignição por compressão (ciclo Diesel)(Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 2020).

Em dezembro de 2023, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) havia aprovado um aumento do biodiesel no diesel de 12% para 14% a partir de março de 2024, com planos para elevar essa proporção para 15% em março de 2025. Essa decisão foi parte de uma estratégia para promover a descarbonização do setor de transporte de cargas rodoviárias, de acordo com o ministro de Minas e Energia, Alexandre Silveira (BiodieselBR, 2024).

Em 2023, a capacidade de produção de biodiesel no Brasil era de 14,6 milhões de m³, mas a produção efetiva foi de 7,5 milhões de m³ como podemos ver no gráfico a seguir, o que representou 51,6% da capacidade total. Houve um aumento de 20,4% na produção em relação a 2022. As regiões Nordeste e Sudeste registraram quedas de 1,1% e 2,8%, enquanto a maior produção ocorreu no Sul, com 3,1 milhões de m³ (41,8% do total). O Centro-Oeste produziu 3 milhões de m³ (40,3% do total), e o Norte teve um aumento significativo de 74%, alcançando 283,3 mil m³. O Rio Grande do Sul foi o maior produtor, com 1,7 milhão de m³, seguido por Mato Grosso e Goiás. (Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), 2024).

Figura 1 – Evolução da produção de Biodiesel (B100)-2014-2023



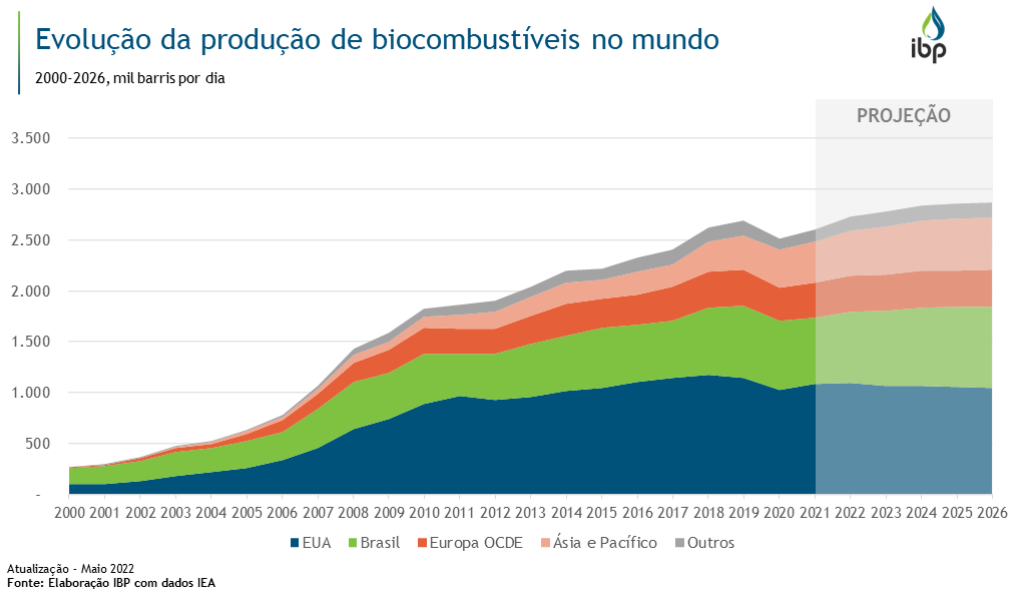
Fonte: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (2024).

O biodiesel é quimicamente um éster monoalquílico, resultante de uma reação de transesterificação, onde moléculas de triglicerídeos mais complexas são convertidas em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos, que possuem propriedades físicas e químicas similares ao diesel derivado de petróleo. Mais de 95% das plantas de produção de biodiesel utilizam óleos vegetais alimentares, como o de soja, colza, palma e girassol. A transesterificação é uma reação reversível, que ocorre em três etapas, gerando biodiesel e glicerol como subproduto. A maioria das indústrias usa uma rota metanólica, catalisada por um reagente alcalino homogêneo, como NaOH, KOH ou CH₃ONa. Para tornar a produção de biodiesel mais sustentável, é essencial diversificar as matérias-primas e otimizar os processos, visando tanto a redução de custos quanto o menor impacto ambiental. Os óleos vegetais virgens podem representar até 95% dos custos de produção, e a diversificação das fontes, como o uso de gorduras animais e a reciclagem de resíduos, especialmente os provenientes da indústria alimentícia e de atividades domésticas, pode melhorar a viabilidade econômica e ajudar a resolver problemas relacionados à energia e ao manejo de resíduos (DIAS *et al.*, 2014).

2.3 Panorama dos Biocombustíveis

Conforme o (Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás, 2024), a produção global de biocombustíveis, como etanol, biodiesel e HVO, aumentou mais de 10 vezes entre 2000 e 2019, alcançando 2,7 milhões de barris por dia (b/d) em 2019, com os EUA liderando com 1,1 milhão b/d (42,4%) e o Brasil em segundo com 710 mil b/d (26,4%). Nesse ano, todas as grandes regiões produtoras tiveram crescimento, embora em ritmo mais lento que na década anterior, o que resultou na redução dos preços do etanol e biodiesel, influenciada por políticas como subsídios, impostos diferenciados e misturas obrigatórias. Em 2020, a pandemia de Covid-19 impactou fortemente o setor devido às restrições de mobilidade e à queda nos preços dos combustíveis fósseis, tornando os biocombustíveis menos competitivos, o que levou a uma queda de 6,5% na produção, a primeira em 20 anos. Até 2026, a Agência Internacional de Energia projeta um aumento global de 6,8% em relação ao recorde de 2019, com destaque para o crescimento de 52,9% na Ásia e Pacífico e um aumento de 11,7% no Brasil, principalmente no consumo e produção de etanol, além do potencial dos biocombustíveis impulsionado pela mistura obrigatória com diesel e gasolina.

Figura 2 – Evolução da produção de Biocombustíveis no mundo



Fonte: Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás (2024).

O principal obstáculo para o desenvolvimento e uso do biodiesel é o seu elevado custo de produção, sendo que mais de 75% desse valor está associado ao gasto com matéria-prima. Óleos de matéria-prima mais econômicos são preferíveis, pois podem reduzir o custo de produção para

algo entre 70% e 90% do total. Na China, o consumo anual de óleo comestível supera 40 milhões de toneladas, representando cerca de 20% do consumo global, posicionando o país como o maior consumidor mundial. O OFR oferece um potencial de fornecimento superior a 13 milhões de toneladas por ano, sendo uma das matérias-primas mais valiosas para aplicações industriais devido ao seu baixo custo e ampla disponibilidade. No cenário de "pico de emissões de dióxido de carbono e neutralidade de carbono", a política e a oferta de recursos determinam que a produção de biodiesel a partir de óleos e gorduras usados é a rota mais adequada para o desenvolvimento. Além disso, processos simples favorecem a minimização de grandes investimentos de capital e permitem operações com o menor custo possível. A transesterificação é o método mais utilizado, sendo amplamente reconhecido na indústria (CHANG *et al.*, 2024).

2.4 Base de Produção

De acordo com Oliveira e Aquino (2010), o descarte inadequado de óleos vegetais no meio ambiente é um sério problema, pois compromete o equilíbrio ecológico, especialmente em rios, oceanos e solos. A maneira mais eficaz de combater esse problema é através da conscientização da população e do incentivo à reciclagem, uma vez que o óleo pode ser utilizado na produção de biodiesel. O baixo custo do óleo residual como matéria-prima é uma vantagem importante, além dos benefícios ambientais que essa prática oferece.

A produção de biodiesel se baseia principalmente em três reações: craqueamento térmico, transesterificação e esterificação. Sendo a transesterificação e a esterificação as metodologias mais estudadas atualmente (MAGRIOTIS *et al.*, 2023).

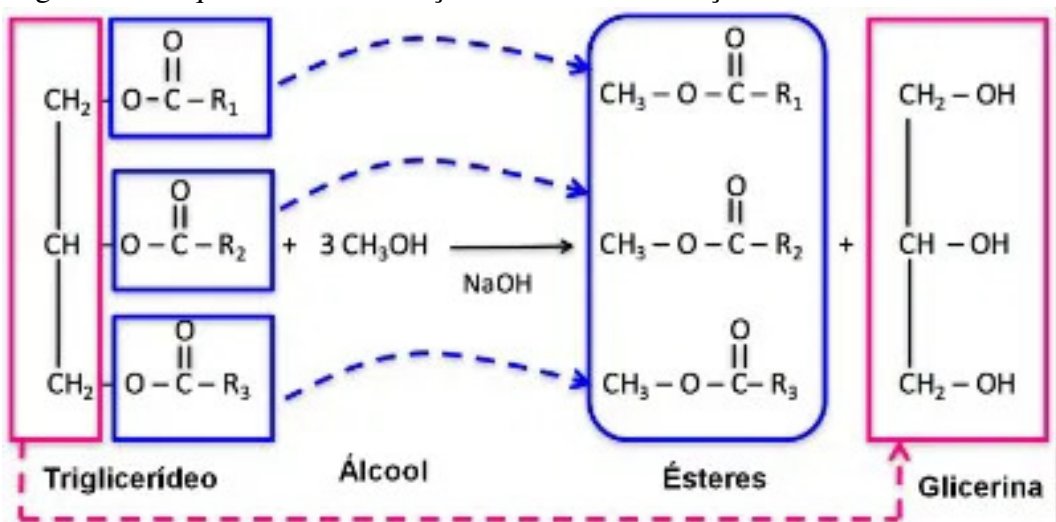
2.5 Transesterificação

A reação de transesterificação, é um processo de alcoólise, que envolve a troca do grupo alcoxila de um éster por outro, originando ésteres e glicerol a partir de triglicerídeos. Álcoois alifáticos de cadeia curta, como metanol e etanol, atuam como reagentes e, na presença de catalisadores ácidos, básicos ou enzimáticos, deslocam o equilíbrio da reação no sentido da formação dos ésteres. A escolha do álcool depende de fatores como disponibilidade, custo e impacto ambiental, sendo o etanol uma alternativa mais sustentável, mas o metanol o reagente mais utilizado industrialmente. A configuração em batelada é a mais comum para essa reação, apesar de processos contínuos oferecerem vantagens em termos de eficiência e controle, embora

exijam maiores investimentos iniciais (ARANSIOLA *et al.*, 2014).

A transesterificação é um processo químico reversível, composto por três etapas, essencial para a produção de biodiesel. Inicialmente, o triglicerídeo (TG), presente em óleos vegetais ou gorduras animais, reage com álcool (geralmente metanol ou etanol), liberando uma molécula de diglicerídeo (DG) e uma de éster (R1COOR). Na segunda etapa, o DG reage com mais álcool, formando monoglicerídeo (MG) e um novo éster (R2COOR). Na etapa final, o MG reage novamente com álcool, resultando na formação de glicerol (GL) e o terceiro éster (R3COOR). O produto dessas reações é uma mistura de ésteres de ácidos graxos, conhecida como biodiesel, que é uma alternativa renovável ao diesel convencional, com o subproduto glicerol sendo aproveitado em diversos setores (SANTANA, 2008).

Figura 3 – Esquema de uma Reação de Transesterificação

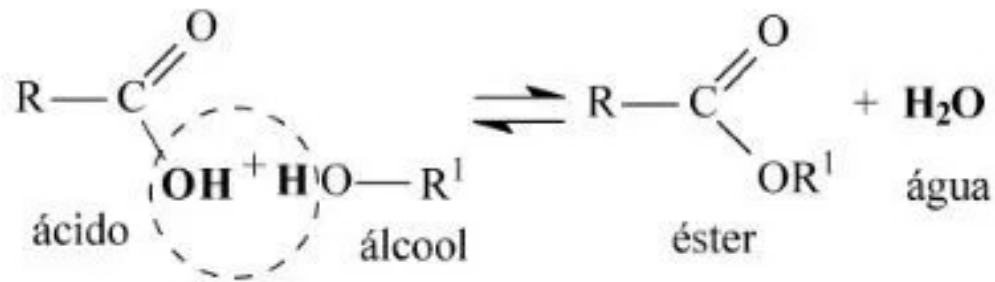


Fonte: Toda Matéria (n.d.)

2.6 Esterificação

A esterificação é uma reação química entre um ácido carboxílico e um álcool, formando um éster e água. Essencial na produção de biodiesel, especialmente para óleos com alta acidez, ela converte ácidos graxos livres em ésteres, facilitando a posterior transesterificação. catalisada por ácidos, a esterificação é um processo reversível e geralmente requer condições específicas de temperatura e catalisador para ocorrer de forma eficiente. A ampla aplicação dos ésteres, como aromatizantes e biodiesel, destaca a importância da esterificação na indústria química (Toda Matéria, n.d.).

Figura 4 – Esquema de uma Reação de Esterificação



Fonte: Toda Matéria (n.d.)

A esterificação é um processo que pode ser acelerado pelo aumento da temperatura e pela adição de um catalisador. A velocidade dessa reação varia dependendo dos reagentes utilizados (ácido carboxílico e álcool). O excesso de um dos reagentes e a presença de catalisadores, como ácido sulfúrico (H₂SO₄) e ácido clorídrico (HCl), influenciam significativamente a formação do éster. No entanto, o uso de ácidos minerais como catalisadores apresenta desvantagens, como a desidratação de álcoois e a corrosão de equipamentos. A esterificação também pode ocorrer sem a adição de catalisadores, mas a reação é muito lenta. No caso do biodiesel, a esterificação envolve a reação entre um ácido graxo e um álcool de cadeia curta, na presença de um catalisador ácido, resultando em um éster de ácido graxo e água (BRITO, 2008).

Embora o mecanismo da reação seja amplamente compreendido, diversas investigações têm sido realizadas com o objetivo de aprimorar as reações de esterificação e explorar suas aplicações industriais. Essas pesquisas envolvem a introdução de novos catalisadores, bem como a modificação das condições reacionais, incluindo o controle da temperatura e pressão do meio, além da análise da concentração dos reagentes (MEDEIROS, 2008). A esterificação catalisada por ácido apresenta várias desvantagens, como alto consumo energético, corrosão de equipamentos, baixa seletividade, tratamento de resíduos e a formação de subprodutos que não possuem atividade óptica (SILVA, 2014). Como alternativa, a reação de esterificação utilizando lipase como biocatalisador oferece várias vantagens, como um pH próximo ao neutro, sem reações colaterais ou formação de subprodutos. Isso reduz a necessidade de processos adicionais de separação do catalisador e do produto, além de diminuir os custos operacionais (RAJENDRAN *et al.*, 2009).

2.7 Imobilização

A imobilização de lipase em suportes sólidos tem se mostrado uma estratégia eficaz para reduzir os custos na produção de biodiesel. Esse processo não apenas aumenta a atividade catalítica da enzima, mas também impede o acúmulo da lipase em condições de baixa umidade e melhora sua dispersibilidade. Além disso, a imobilização aprimora a eficiência da lipase, conferindo-lhe maior estabilidade, pureza e seletividade frente a inibidores. Diversos métodos podem ser utilizados para imobilizar a enzima, como ligação covalente, encapsulamento, reticulação ou adsorção física, sendo este último o mais comum devido à sua simplicidade e eficácia (PARANDI *et al.*, 2023).

Entretanto, a imobilização pode alterar algumas propriedades físico-químicas das enzimas, como o pH ótimo e a constante de Michaelis-Menten, em razão das modificações estruturais causadas pela catálise heterogênea, que também dificulta o processo de difusão. Por outro lado, a imobilização aumenta a estabilidade da enzima, tornando-a mais rígida e menos suscetível à ação de ativadores e inibidores. Os métodos de imobilização incluem o confinamento em matrizes poliméricas, encapsulação em membranas, adsorção (física ou química) e reticulação (CAVALCANTI, 2020).

A lipase tem sido imobilizada em diversos suportes, como celulose, pectina, silício poroso, alginato, carvão ativado e quitosana, a fim de superar limitações das lipases livres, como instabilidade e baixa reutilização. A imobilização enzimática em nanopartículas magnéticas, em particular, se destaca como uma das tecnologias biotecnológicas mais promissoras, oferecendo várias vantagens, como alta biocompatibilidade, grande área de superfície e boa resistência à oxidação. Esse processo melhora a performance catalítica da lipase, aumentando sua estabilidade química e térmica, seletividade, reusabilidade e atividade em uma ampla gama de condições reacionais. Além disso, as nanopartículas magnéticas, como as de óxido de ferro, são ideais para imobilização enzimática em aplicações industriais, pois permitem fácil recuperação e reutilização através de campos magnéticos externos após a reação (PARANDI *et al.*, 2022).

As nanopartículas magnéticas (MNPs) desempenham um papel crucial na imobilização da lipase, funcionando como matrizes de suporte e transportadores versáteis. Elas oferecem uma grande área de superfície, o que aumenta a capacidade de carga e reduz a resistência à transferência de massa. A aplicação de um campo magnético externo também contribui para prolongar a vida útil do biocatalisador, facilitando sua recuperação e reciclagem de forma eficiente (PARANDI *et al.*, 2023).

2.8 Nanopartículas

A nanotecnologia surge como uma abordagem promissora para modificar as propriedades físico-químicas de substâncias em nível molecular, permitindo o desenvolvimento de produtos inovadores. As nanopartículas, definidas pela União Internacional de Química Pura e Aplicada (IUPAC) como partículas microscópicas com diâmetro de até 100 nm, possuem a vantagem de uma grande área de superfície em relação ao volume. Essa característica torna as nanopartículas de ferro ideais para diversas áreas, como engenharia, eletrônica, neurobiologia, pesquisa médica e remediação ambiental. Quando sintetizadas por processos "verdes", essas nanopartículas apresentam menor toxicidade e baixa tendência à aglomeração, mantendo alta estabilidade devido às biomoléculas presentes nos extratos biológicos. Esses extratos auxiliam na prevenção da oxidação e agregação das nanopartículas, tornando o processo ambientalmente amigável, econômico e eficiente (KUMAR *et al.*, 2024).

As nanopartículas magnéticas (NPM) são comumente compostas por óxidos de ferro, mas também podem ser produzidas a partir de outros elementos, como níquel (Ni) e cobalto (Co), mantendo a mesma nomenclatura. Na natureza, destacam-se vários tipos de óxidos de ferro, como ferrihidrita (Fe_5HO_8), hematita (Fe_2O_3), maguemita (Fe_2O_3) e magnetita (Fe_3O_4), que possuem propriedades magnéticas, elétricas, morfológicas e físico-químicas interessantes, sendo adequados para aplicações tecnológicas variadas (NASCIMENTO, 2022).

A magnetita, um minério de grande relevância, é um óxido misto com a fórmula $\text{FeO} \cdot \text{Fe}_2\text{O}_3$, composta por cátions Fe^{2+} e Fe^{3+} em sua estrutura. Sua síntese ocorre por coprecipitação de sais em solução aquosa, seguida de precipitação com hidróxido em uma atmosfera inerte. Durante esse processo, pode haver variações no tamanho das partículas, sendo que o controle da sua dimensão, forma e composição depende de fatores como a razão estequiométrica entre os cátions, o pH, a velocidade de agitação do sistema e a taxa de adição do agente redutor (CAVALCANTI, 2020; SHALINI, 2021).

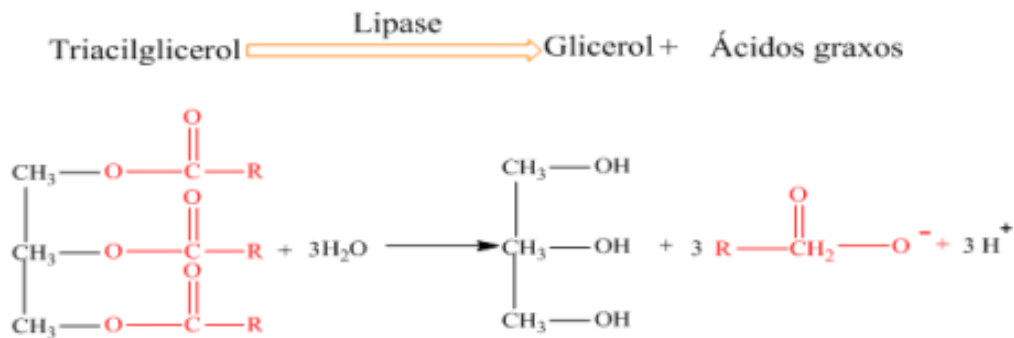
Além disso, para utilizar as NPMs como suportes na imobilização de enzimas, é necessário realizar uma modificação química ou física de sua estrutura, processo denominado funcionalização. Esse processo envolve a inserção de grupos funcionais, como aminas, hidroxilas e carboxilas, na superfície das nanopartículas, aumentando sua afinidade com as enzimas. Os agentes mais utilizados na funcionalização das NPM incluem carboxilatos (como ácido cítrico, citrato de sódio e ácido oleico), polímeros sintéticos (como PEG, PVA, PEO e Triton X-100) e polissacarídeos naturais (como dextrano e quitosana). Com a funcionalização, as atividades

enzimáticas e a estabilidade das NPMs são significativamente aprimoradas, conferindo maior resistência ao contato com o ar, estabilidade ao pH, estabilidade coloidal e uma maior capacidade de ligação com agentes externos(CAVALCANTI, 2020).

2.9 Lipases

As lipases formam um grupo de enzimas hidrolíticas que atuam na interface entre meios orgânicos e aquosos, facilitando a quebra de óleos e gorduras e liberando ácidos graxos e glicerol como produtos da reação. Elas também desempenham um papel importante na catálise de reações como esterificação, transesterificação e interesterificação (MIRANDA *et al.*, 2014).

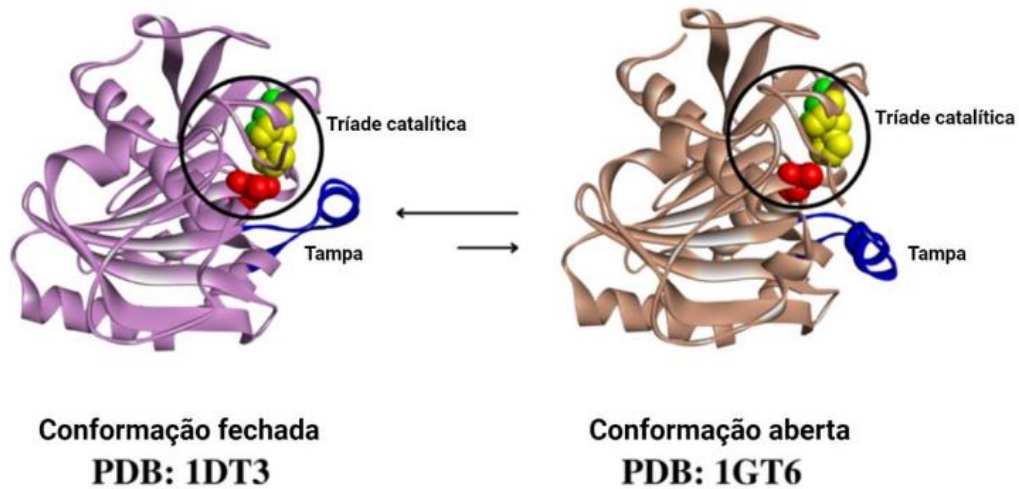
Figura 5 – Hidrólise Enzimática Catalisada por Lipase



Fonte: Cavalcanti (2020)

O sítio ativo das lipases é composto por uma tríade catalítica formada pelos aminoácidos SER, HIS e ASP. Essa tríade é frequentemente coberta por uma estrutura helicoidal hidrofóbica chamada "tampa" ou "lid"(JAEGER; REETZ, 1998). Quando a lipase interage com a interface entre lipídeos e água, ocorre uma mudança na conformação tridimensional da enzima, deslocando a tampa e convertendo-a de uma estrutura “fechada” para uma forma “aberta”, permitindo que o sítio ativo fique acessível ao substrato. A abertura da tampa revela uma extensa superfície hidrofóbica, favorecendo a ligação da lipase ao substrato (DALLA-VECCHIA *et al.*, 2004).

Figura 6 – Ilustração da Alteração Conformacional da Lipase



Fonte: Sousa (2022)

Esse processo, conhecido como ativação interfacial, tem sido amplamente utilizado no desenvolvimento de métodos para imobilizar, purificar, estabilizar e hiperativar lipases, através da fixação de sua forma aberta em suportes hidrofóbicos *apud* (SANTOS, 2023). No entanto, nem todas as enzimas apresentam ativação interfacial. Um exemplo é a lipase B de *Candida antarctica* (CALB), o que levou ao avanço de novas pesquisas e abordagens metodológicas voltadas para a região interfacial da enzima. Essas descobertas têm gerado informações valiosas sobre a estereoseletividade das lipases e a influência das propriedades macroscópicas do meio sobre a sua atividade enzimática (VERMELHO *et al.*, 2008).

As lipases lipolíticas são encontradas naturalmente em tecidos de animais e plantas, além de poderem ser produzidas por fermentação de microrganismos (DALLA-VECCHIA *et al.*, 2004). Nos animais, elas participam da digestão e metabolismo das gorduras (SHARMA *et al.*, 2001), enquanto nas plantas, atuam na germinação ao metabolizar triglicerídeos (QUETTIER; EASTMOND, 2009). A produção microbiana de lipases tem ganhado destaque comercial devido ao seu baixo custo, alta estabilidade e facilidade de extração, especialmente em aplicações biotecnológicas e na síntese orgânica. Fungos e bactérias são as fontes mais comuns para a obtenção dessas enzimas (FERRAZ, 2018).

As lipases mais frequentemente utilizadas em pesquisas de imobilização são derivadas de espécies bacterianas, como *Bacillus*, *Pseudomonas* e *Burkholderia*; de leveduras, como *Candida rugosa* e *Candida antarctica*; e de fungos dos gêneros *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Geotrichum*, *Mucor*, *Rhizomucor* e *Thermomyces lanuginosus* (FERRAZ, 2018).

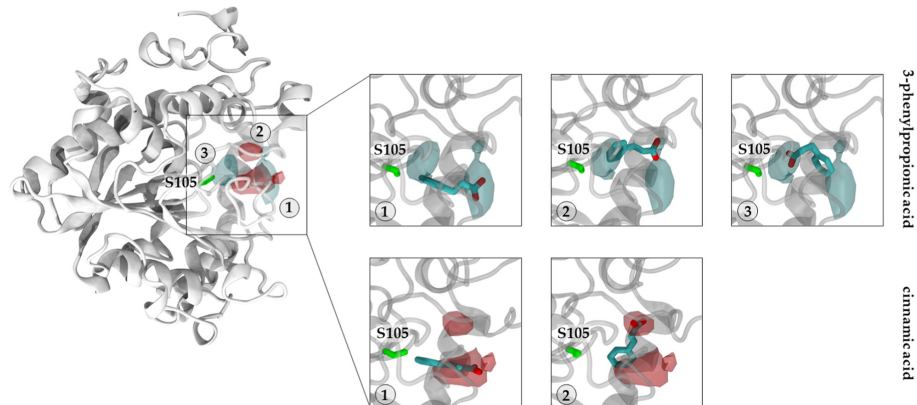
2.10 Enzima CALB

As lipases possuem uma ampla gama de aplicações nos setores alimentício, farmacêutico, químico e ambiental, destacando-se por sua elevada eficiência catalítica em reações como hidrólise, alcoólise, esterificação e transesterificação. Entre elas, a lipase B de *Candida antarctica* (CALB) é especialmente reconhecida por sua atividade catalítica superior em relação a outras lipases, sendo amplamente empregada nesses setores devido à sua eficácia comprovada em diversas reações (LI *et al.*, 2024).

CALB é composta por 317 resíduos de aminoácidos, com peso molecular aproximado de 33 kDa, e pertence à família das hidrolases α / β , apresentando uma tríade catalítica com os resíduos Ser105 (S105), His224 (H224) e Asp187 (D187) em seu sítio ativo. Ao contrário de muitas outras lipases, a maior parte de sua superfície é hidrofóbica, o que contribui para sua estabilidade e eficiência. CALB exibe atividade em uma faixa de pH entre 6 e 10, com ponto isoelétrico de 6,8, e é amplamente utilizada em biocatálise industrial, especialmente por sua estabilidade em diferentes meios, como solventes aquosos, orgânicos, líquidos iônicos e até fluidos supercríticos. Em escala industrial, sua produção é realizada principalmente através de fermentação submersa de *Aspergillus niger* geneticamente modificado (ZIENIUK *et al.*, 2023).

Nessa lipase, o acesso ao sítio ativo para ligação do substrato é estruturado com uma cavidade destinada às ligações acila e outra região para interações com álcoois. Diferentemente de muitas outras lipases, que possuem uma tampa maior que dificulta o acesso ao sítio ativo, essa enzima apresenta uma tampa reduzida, o que facilita tanto a entrada dos substratos quanto a liberação dos produtos da reação, tornando-a ainda mais eficiente e versátil em processos catalíticos (SOUZA, 2013).

Figura 7 – Esquema de uma Reação de Esterificação



Fonte: Zieniuk *et al.* (2023)

3 METODOLOGIA

A metodologia adotada neste estudo iniciou-se com uma revisão aprofundada da literatura relevante ao tema. As leituras abordaram a produção de biodiesel por meio de reações de esterificação e transesterificação, realizadas com catálise enzimática. Além disso, foi feito um levantamento sobre o contexto histórico e econômico do biodiesel, das enzimas e dos processos de imobilização enzimática. Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Biomassa, situado no Campus das Auroras da Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB).

3.1 Materiais e Métodos

Este estudo empregou óleo de soja residual, um subproduto da produção de biodiesel por rota química, coletado no município de Acarape. Esse óleo integra o projeto PFORMA, uma iniciativa pioneira da Prefeitura Municipal de Acarape em parceria com pesquisadores da UNILAB, cujo objetivo é organizar uma gestão socioambiental na cidade, promovendo a economia circular e a sustentabilidade na região.

Alinhado aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), o PFORMA envolve ativamente a Associação Nova Geração dos Catadores e Catadoras de Materiais Recicláveis de Acarape, fortalecendo a coleta seletiva no município. (Prefeitura Municipal de Acarape, 2024). Essa colaboração inovadora converte resíduos em matéria-prima para pesquisas acadêmicas, exemplificando como a ciência e as ações de gestão ambiental podem se complementar para impulsionar o desenvolvimento sustentável.



O precipitado foi purificado por lavagens repetidas com água destilada, sendo o processo interrompido quando o líquido sobrenadante atingiu neutralidade. Após a remoção da água com etanol, a magnetita foi isolada magneticamente e seca em dessecador. O material sólido seco foi identificado como NPMs.

3.3 Preparação do Suporte Utilizando g-Aminopropiltriétoxisilano (APTES)

A reação começou com a adição das nanopartículas magnéticas em 200 ml de etanol a 95%. O material foi então submetido a ultrassom por 1 hora. Após esse período, foram adicionados 10 ml de APTES, e o ultrassom foi mantido por mais 1 hora a 60°C. Em seguida, o material precipitado foi lavado com etanol com o auxílio de um ímã e colocado em um dessecador (NETTO *et al.*, 2009) com adaptações.

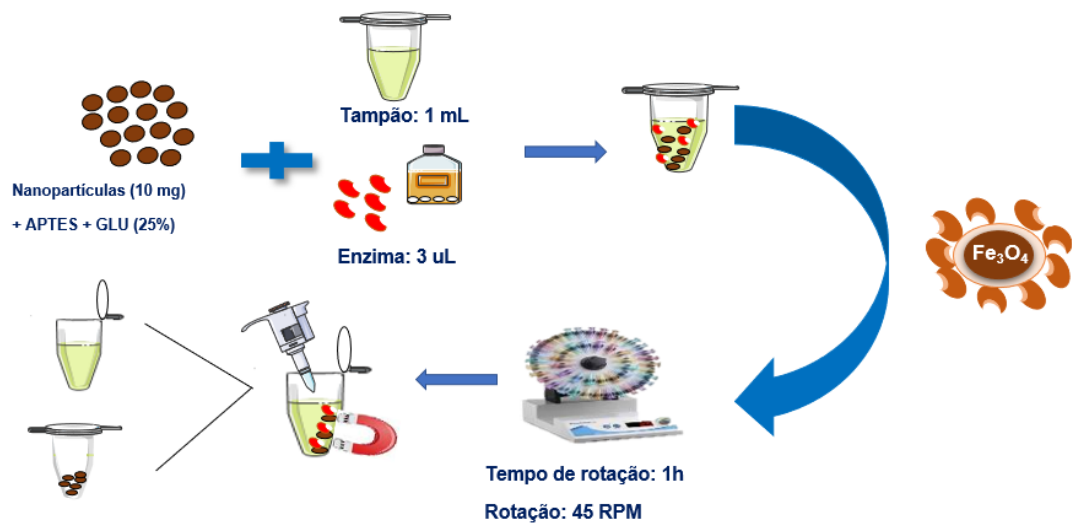
3.4 Ativação do Suporte Utilizando Glutaraldeído (GLU)

As nanopartículas magnéticas (NPMs) foram imersas em uma solução de glutaraldeído (GLU) a uma concentração de 25% (p/v), seguindo a metodologia proposta por (SOUZA *et al.*, 2017). Inicialmente, foram misturados 25 μL de glutaraldeído com 0,01 g de partículas de magnetita. A mistura foi agitada por 2 horas a uma temperatura de 25°C. Após esse período, os suportes foram lavados três vezes com um tampão fosfato de sódio a 5 mmol.L1 (pH 7) para remover o glutaraldeído residual. O suporte resultante foi denominado NPM-GLU (SOUZA, 2013).

3.5 Imobilização

Foram pesadas 0,01 g de nanopartículas magnéticas (NPMs) e, em seguida, adicionados 1 mL de uma solução tampão de fosfato de sódio com concentração de 5 mmol. L-1, pH 7,0, a 25° C. A mistura foi mantida sob agitação contínua a 45 rpm por 1 hora. A enzima imobilizada foi retirada da solução por meio de separação magnética, conforme ilustrado no esquema abaixo.

Figura 9 – Diagrama do Processo de Imobilização Enzimática.



Fonte: Santos (2023)

A avaliação do desempenho da enzima imobilizada incluiu o cálculo dos rendimentos, eficiências e atividades de recuperação, conforme descrito por (SHELDON; PELT, 2013). O rendimento de imobilização foi calculado como a razão entre a atividade imobilizada (que se refere à atividade das enzimas que permaneceram no suporte) e a atividade inicial. A atividade imobilizada foi medida por meio da quantificação da atividade enzimática residual total que ficou na solução após o processo de imobilização, subtraindo-se esse valor da atividade total inicial. A atividade teórica (AtT) foi obtida usando o rendimento de imobilização (IY) e a carga enzimática. Por sua vez, a atividade recuperada (AtR) foi calculada pela relação 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.

3.6 Avaliação da Atividade Enzimática

A atividade enzimática, que foi medida em $80 \text{ U } p\text{NPB} \cdot \text{g}^{-1}$, foi determinada utilizando espectrofotometria. Para isso, empregou-se uma solução de butirato de *p*-nitrofenil (*p*-NPB) a $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ em álcool isopropílico. A reação foi preparada ao misturar 50 L de *p*-NPB com 2,5 mL de um tampão fosfato de sódio a $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ e pH 7, juntamente com 50 μL da amostra ou 10 mg do biocatalisador, mantendo-se a temperatura de $25 \text{ }^\circ\text{C}$. O *p*-nitrofenol, produto resultante da hidrólise do *p*-NPB, foi quantificado por espectrometria em um espectrofotômetro JASCO V-730 BIO, ajustado para um comprimento de onda de 348 nm ($= 10,052 \text{ mol } L^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Uma unidade de atividade (U) foi definida como a quantidade de enzima que hidrolisa 1 μmol de *p*-NPB por minuto, seguindo as condições estabelecidas (SOUZA et al., 2017).

$$\frac{U}{g} = \frac{\text{slope} \times 0.175 \times 25 \text{ mL}}{0.01 \text{ g}} \quad (3.1)$$

Slope: Valor obtido no espectro durante a leitura da amostra, correspondente à absorbância após 90 segundos.

0,175: Fator da curva de calibração para o *p*-nitrofenol (*p*NP), determinado no espectro (valor fixo).

25 mL: Volume total de líquido no béquer.

0,01 g: Peso do derivado utilizado.

3.7 Tratamento Preliminar do Óleo Residual de Frituras (ORF)

Figura 10 – Óleo de Fritura Residual Sem Tratamento.



Fonte: Autor

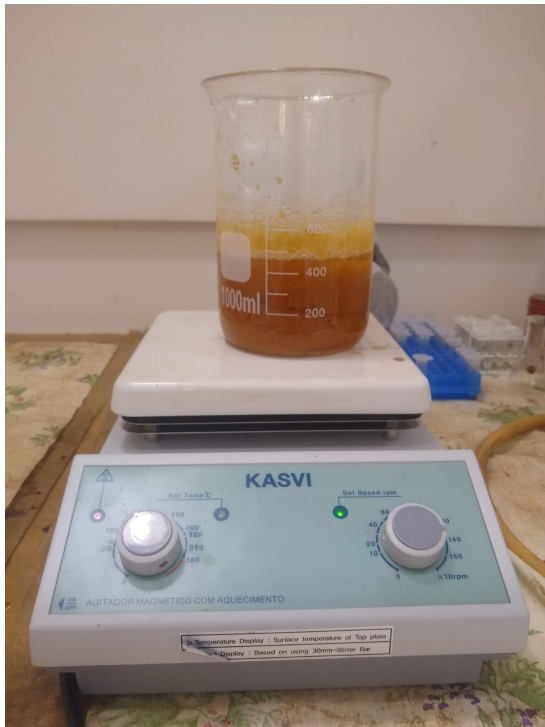
Na figura 10 está representando o óleo utilizado para a realização deste trabalho, como podemos observar há uma separação em camadas de cores distintas, o que indica a presença de várias fases e substâncias diferentes. Essas camadas geralmente representam partículas sólidas suspensas, ácidos graxos livres, água e outros contaminantes que se acumulam no óleo após o uso.

A separação de cores pode ser explicada pela diferença de densidade entre os compostos presentes. A camada mais escura na parte superior geralmente é formada por resíduos de gordura e partículas de alimentos, enquanto as camadas mais claras na parte inferior podem conter água e sedimentos.

3.8 *Processo de Hidrólise de Óleo Residual*

Para conduzir esse procedimento, foram pesados 300 g de óleo vegetal não refinado, que foram aquecidos a 90 °C, sob agitação mecânica a 500 rpm. Em seguida, adicionou-se uma solução de NaOH a 20% (m/v) até que o pH alcançasse 14, assegurando a saponificação total do óleo. Posteriormente, foi acrescentada lentamente uma solução aquosa de H₂SO₄ a 6 mol/L até que o pH fosse reduzido para 2, mantendo a temperatura em 90 °C e a agitação a 500 rpm. O produto obtido foi transferido para um funil de decantação, onde a glicerina gerada foi separada, e o óleo hidrolisado foi lavado com água destilada até que o pH chegasse a 6. As imagens a seguir mostram o processo:

Figura 11 – Processo de Hidrólise do Óleo.



(a) Aquecimento de OFR.



(b) Decantação de OFR

3.9 Análise do Índice de Acidez (IA)

O índice de acidez (IA) é um parâmetro fundamental para quem utiliza óleo residual na produção de biocombustíveis, pois permite avaliar rapidamente o estado físico de conservação do óleo. Ele mede a quantidade de ácidos graxos livres (AGL) na matéria-prima destinada à produção de biodiesel. Este passo do pré-tratamento envolve uma quebra de óleo residual, que altera a concentração de íons de hidrogênio. A compensação dos glicerídeos é acelerada pelo calor, o que libera encargos pelo rancidez e resulta na formação de ácidos graxos livres (Instituto Adolfo Lutz, 2008).

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

O índice de acidez foi analisado pelo método 5-40 AOCS com adaptações (MOSSOBA; KRAMER, 2010; SOUZA 2013). Para realizar este processo, foi pesado 0,5 g do óleo hidrolisado, ao qual foram adicionados 25 mL de álcool neutro (pH 7) e duas gotas do reagente fenolftaleína. Durante a titulação, a solução de hidróxido de potássio (KOH) foi adicionada gradualmente até atingir o ponto de viragem. A coloração rosa resultante ocorre devido à neutralização completa dos ácidos graxos livres presentes no óleo, o que leva à predominância de um meio básico na solução. Após atingir o ponto final, todas as medidas foram anotadas e utilizadas na fórmula (3.2) para o cálculo do índice de acidez.

$$IA \left(\frac{\text{mg KOH}}{\text{g}} \right) = \frac{V \times f \times C \times 56,11}{m} \quad (3.2)$$

3.10 Quantificação da Densidade

A densidade foi medida utilizando o método da picnometria. Inicialmente, um picnômetro vazio de 25 mL foi pesado, registrando sua massa seca (m_1 , em g). Em seguida, o óleo residual refinado foi adicionado até atingir a capacidade máxima do picnômetro, e a massa do recipiente cheio foi novamente pesada (m_2 , em g) (SEBASTIÃO *et al.*, 2018).

A equação para calcular d é dada por:

$$D\left(\frac{g}{ml}\right) = \left(\frac{m_2 - m_1}{25}\right) \quad (3.3)$$

Figura 12 – Óleo Analisado em Picnômetro para Determinação de Densidade.



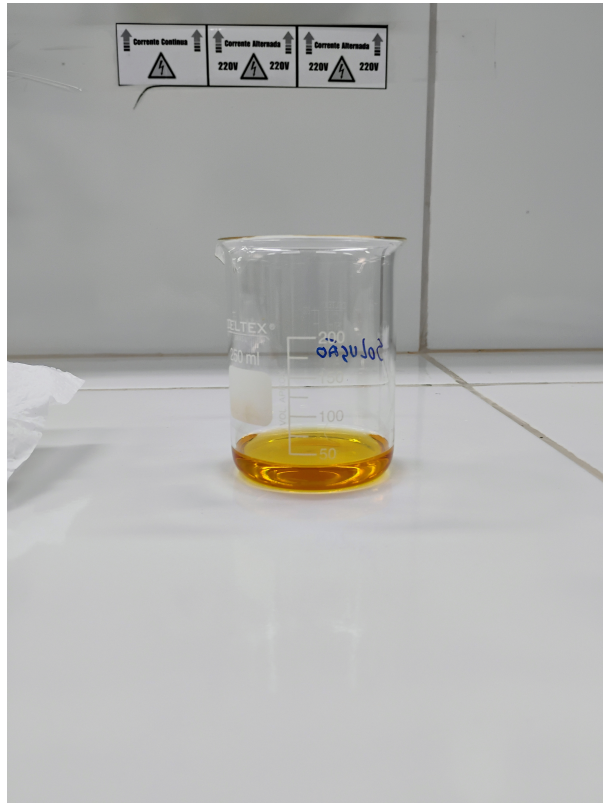
Fonte: Autor

3.11 Análise Quantitativa da Umidade

O conteúdo de umidade do óleo de fritura residual foi determinado por gravimetria. Amostras do óleo residual refinado foi pesado em um béquer de 250 mL e submetido à secagem em estufa SOLIDSTEEL, modelo SSA – 21 L, a 105 ± 5 °C, por 120 minutos. A perda de massa após a secagem correspondeu à quantidade de água presente nas amostras (SEBASTIÃO *et al.*, 2018).

$$\text{Teor de umidade (\%)} = \frac{(A - B) \times 100}{A} \quad (3.4)$$

Figura 13 – Óleo Após Exposição a Período de Secagem em Estufa.



Fonte: Autor

3.12 *Síntese do Óleo Residual Hidrolisado*

Os experimentos de esterificação foram conduzidos em microtubos plásticos com capacidade de 2,0 mL, nos quais foram adicionados 0,5 g de óleo de fritura, 150 μL de uma mistura de etanol e metanol na proporção molar de 1:1 e 0,01 g do biocatalisador lipase B (CALB) proveniente de *Candida Antarctica*. A reação foi realizada em uma incubadora orbital, ajustada para 150 rpm, com temperatura controlada a 37 °C. Para determinar o índice de acidez, foi utilizado o método 5-40 da AOCS (MOSSOBA; KRAMER, 2010).

3.13 *Avaliação da Estabilidade Operacional da Lipase B (CALB) de Candida Antarctica Imobilizada*

3.13.1 Cinética

A cinética da reação foi avaliada em intervalos de 2h, 4h, 6h, 8h, 16h, 24h, 48h, 72h e 93h, com o intuito de identificar o tempo ideal para a conversão. Para isso, foram adicionados 0,01 g de nanopartículas magnéticas, 3 μL da enzima, 0,5 g de óleo de fritura e 150 μL de uma mistura de etanol e metanol em microtubos plásticos. A mistura reacional foi mantida em agitação a 150 rpm nas horas estipuladas e a uma temperatura constante de 37 °C. Após esse período, pesou-se 0,5 g do produto reacional (ésteres) em um Erlenmeyer, ao qual foram acrescentados 25 mL de álcool comercial neutralizado e 2 gotas de fenolftaleína. Em seguida, a solução foi titulada com KOH 0,1 M, registrando-se o volume consumido de KOH para o cálculo da conversão do óleo hidrolisado.

3.13.2 Síntese

A avaliação da estabilidade operacional da reação de esterificação foi realizada por meio da síntese sequencial de ésteres de ácidos graxos, englobando tanto os ésteres de etila quanto os de metila, utilizando 0,01 g da lipase B de *Candida Antarctica* (CALB). Antes de cada ciclo de reação, o produto foi separado através de um processo de magnetização e posteriormente lavado com hexano, a fim de eliminar os substratos não reagidos e os produtos indesejados. As reações foram executadas de acordo com o que foi descrito na seção **3.12 (Síntese do Óleo Residual Hidrolisado)**.

4 RESULTADOS

O conhecimento aprofundado das propriedades físicas dos óleos vegetais, como densidade e umidade, é crucial para a otimização dos processos industriais de produção de biodiesel. A densidade, que varia linearmente com a temperatura, influencia diretamente o dimensionamento de equipamentos e o fluxo do óleo nas tubulações. Já a umidade, se elevada, pode acelerar a degradação do óleo, comprometendo a qualidade do biodiesel final. Portanto, o controle preciso dessas propriedades é fundamental para garantir a eficiência operacional e a qualidade do produto obtido, desde a etapa de preparação das matérias-primas até o processamento final. Foram comparadas com as propriedades do óleo de soja, o óleo vegetal mais utilizado para a produção de biodiesel no Brasil, e com as propriedades do óleo de girassol, cujos dados foram obtidos em estudos já publicados (ALMEIDA; COSTA, 2012; ALMEIDA *et al.*, 2024).

4.1 Quantificação da Densidade

A densidade do óleo residual, após hidrólise, foi medida utilizando um picnômetro de 25 mL. Os resultados foram comparados com os valores correspondentes aos óleos de soja e girassol, como apresentado na Tabela 1.

Tabela 1 – Densidade de óleos a 25 °C

Óleo	Densidade (g/mL), 25 °C
Babaçu*	0,918 – 0,919
Tucumã*	0,913 – 0,914
Soja**	0,914 – 0,922
Girassol**	0,914 – 0,916
Óleo Residual***	0,933

(*) Fonte: Brandão Junior (2022).

(**) Fonte: MAPA - Ministério da Agricultura, 2006.

(***) Óleo Residual Hidrolisado.

A tabela apresenta a densidade de diferentes óleos vegetais (babaçu, tucumã, soja e girassol) e de óleo residual hidrolisado a 25 °C, com faixas de valores específicas para cada tipo. O óleo de tucumã possui a menor densidade (0,913–0,914 g/mL), enquanto o óleo de soja apresenta a maior variação na faixa de densidade (0,914–0,922 g/mL), refletindo possíveis diferenças no método de extração ou nas condições de produção. O óleo residual hidrolisado, por sua vez, apresenta a maior densidade absoluta (0,933 g/mL), o que é coerente com a presença

de compostos mais densos resultantes do processo de hidrólise.

Os dados foram extraídos de fontes confiáveis, como Brandão Junior (2022) e o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2006), ressaltando a qualidade técnica das informações. A densidade é um parâmetro crítico para a caracterização de óleos, especialmente no contexto da produção de biodiesel, pois influencia diretamente propriedades como viscosidade e eficiência de combustão. Esses valores são fundamentais para selecionar matérias-primas adequadas e otimizar o desempenho do combustível renovável.

4.2 Análise Quantitativa da Umidade

A determinação do teor de umidade da amostra de óleo residual, apresentada na Tabela 2, revelou um valor bem abaixo do limite recomendado. Essa característica é de grande importância, pois a presença de água em óleos pode acelerar processos de oxidação e hidrólise, resultando na deterioração do óleo e na formação de compostos indesejáveis. A baixa umidade encontrada indica que o óleo está quimicamente estável e adequado para o experimento, garantindo a confiabilidade dos resultados.

Tabela 2 – Teor de umidade em diferentes óleos brutos.

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

(*) Fonte: Brandão Junior (2022).

(**) Fonte: MAPA - Ministério da Agricultura, 2006.

(***) Óleo Residual Hidrolisado.

A comparação entre o óleo residual hidrolisado e óleos vegetais como babaçu, tucumã, soja e girassol revela similaridades quanto ao teor de umidade, essencial para a eficiência de processos como a produção de biodiesel. Todos os óleos analisados apresentam umidade inferior a 0,1%.

Embora os óleos vegetais tradicionais sejam amplamente utilizados, o óleo residual hidrolisado se destaca por oferecer vantagens econômicas e ambientais. Seu custo de produção é significativamente menor, tornando-o uma alternativa mais acessível. Além disso, o aproveitamento de resíduos contribui para a economia circular e reduz o impacto ambiental. Quanto ao

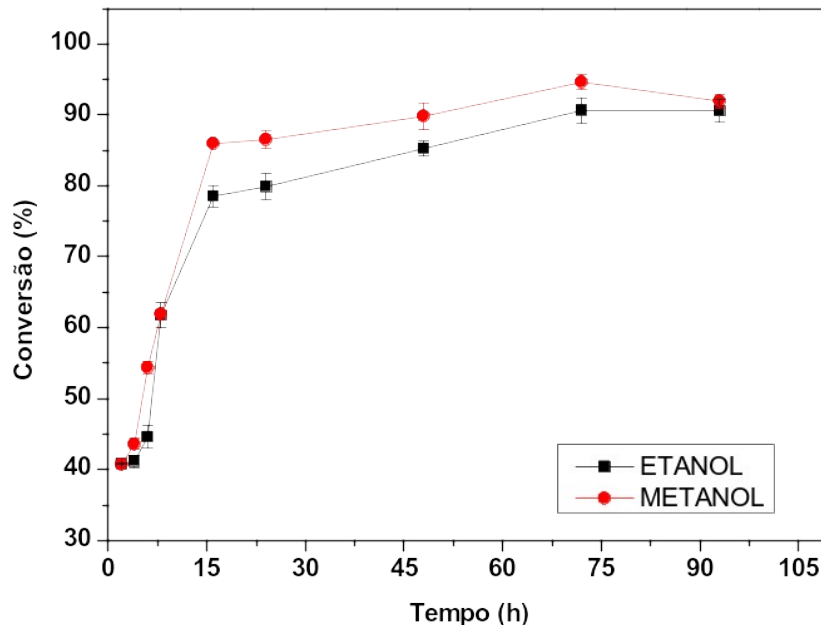
rendimento na produção de biodiesel, a literatura indica que o óleo residual hidrolisado pode apresentar desempenho competitivo, desde que o processo de purificação seja adequado.

Em suma, o óleo residual hidrolisado emerge como uma opção promissora para a produção de biodiesel, combinando baixo custo, sustentabilidade e desempenho comparável aos óleos vegetais tradicionais. A hidrólise garante um produto de alta qualidade, com baixo teor de umidade, tornando-o uma alternativa viável para a indústria

4.3 Análise das Reações de Esterificação

A síntese enzimática do óleo residual hidrolisado foi investigada, visando otimizar as condições de reação. Utilizando um biocatalisador imobilizado, avaliamos a conversão ao longo de diferentes tempos de reação (2, 4, 6, 8, 12, 16, 24, 48, 72 e 93 horas), sob agitação de 150 rpm e temperatura de 37°C. Os resultados demonstraram que a conversão máxima de 90,6% foi atingida após 48 horas de reação, evidenciando a eficiência do sistema enzimático empregado.

Figura 14 – Estudo Comparativo da Cinética de Conversão de Etanol e Metanol.



Fonte: Autor.

Ao comparar os resultados dos estudos mencionados com os obtidos no presente trabalho, observam-se diferenças significativas na eficiência de conversão, destacando a superioridade do método aqui aplicado. Enquanto Souza (2013) relatou uma conversão de 90% de ácido oleico

em oleato de etila em 48 horas utilizando a lipase CALB imobilizada, o presente estudo alcançou conversões superiores, de **90,64% com etanol e 94,64% com metanol**, em um período mais longo de 72 horas. Esses resultados sugerem que o aumento no tempo reacional, aliado às condições otimizadas, foi determinante para atingir maior eficiência.

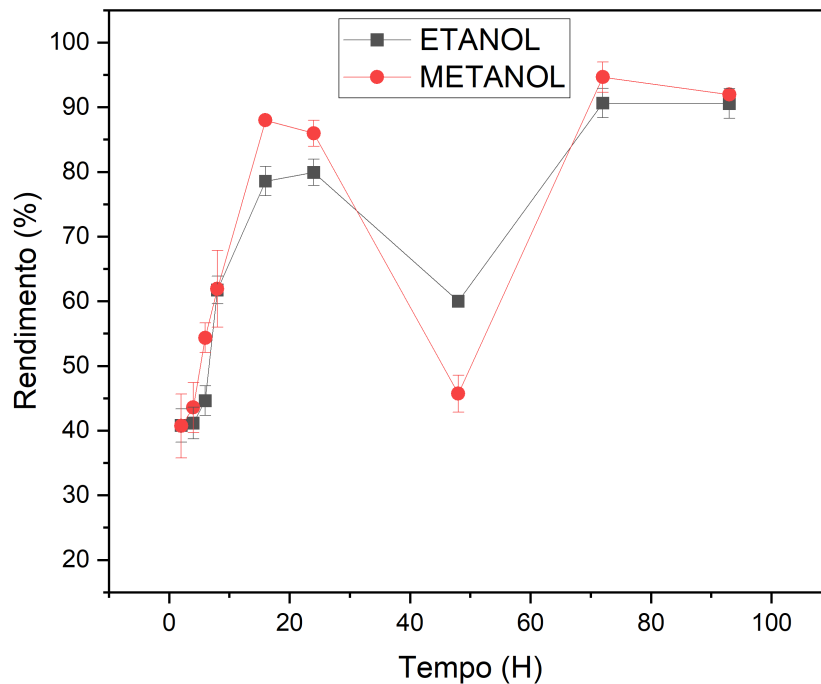
Por outro lado, Nascimento (2022), trabalhando com óleo residual como matéria-prima, obteve uma conversão de 78% em oleato de metila em apenas 4 horas. Embora o tempo de reação seja menor, os valores de conversão do presente estudo indicam maior eficiência, especialmente para a rota metílica, com quase 95% de conversão. Isso reforça o papel das condições experimentais e da otimização do processo para alcançar resultados superiores.

Silva (2023), ao explorar o óleo de pequi como substrato, alcançou conversões máximas de 69% em 8 horas, independentemente do álcool utilizado. Em comparação, o presente estudo obteve maior eficiência com ambos os álcoois, destacando-se novamente a superioridade do processo, principalmente quando o tempo reacional foi estendido para 72 horas. Além disso, os resultados de Silva indicam uma tendência de menor conversão em tempos mais curtos, alinhada com os achados do presente trabalho.

(PEDRO *et al.*, 2020) e (PEDRO, 2018) apresentaram resultados mais modestos, com conversões de 39% e 32% em tempos de reação de 30 minutos e 4 horas, respectivamente, utilizando a CALB livre. Apesar das diferenças metodológicas, como o uso de lipase livre versus imobilizada, fica evidente que a abordagem utilizada no presente estudo, que empregou nanopartículas para imobilização da CALB, trouxe ganhos expressivos em eficiência catalítica, demonstrando um avanço significativo na tecnologia de produção de biodiesel.

Portanto, ao analisar os dados, é possível afirmar que o presente trabalho apresenta um desempenho superior, não apenas em termos de conversão de biodiesel, mas também na aplicação de metodologias mais robustas, como a imobilização enzimática em nanopartículas magnéticas, que potencializam a reutilização e a estabilidade da lipase ao longo do processo.

Figura 15 – Análise da Variabilidade Temporal através do Desvio Padrão.



Fonte: Autor.

O desvio padrão indicado pelas barras de erro no gráfico reflete a dispersão dos valores de rendimento em torno da média ao longo do tempo, para os álcoois etanol e metanol. Nos primeiros momentos da reação, observa-se um desvio padrão relativamente maior, especialmente nos pontos iniciais, sugerindo uma maior variabilidade nos dados e, possivelmente, menor estabilidade na conversão de ésteres. Isso é característico de muitas reações químicas, nas quais o processo ainda está se estabilizando.

À medida que a reação progride, as barras de erro diminuem, indicando menor variabilidade e maior consistência nos rendimentos. Essa redução do desvio padrão sugere que a reação se aproxima de um ponto de equilíbrio, em que o rendimento de éster se estabiliza. Nos períodos finais, entre 80 e 100 horas, o desvio padrão para ambos os álcoois é consideravelmente pequeno, evidenciando maior consistência nos valores de rendimento. O desvio padrão, portanto, é uma ferramenta essencial para avaliar a confiabilidade e estabilidade dos dados ao longo do tempo. Inicialmente, as variações são mais acentuadas, enquanto nos períodos finais os valores se tornam mais previsíveis e estáveis, indicando uma reação mais uniforme.

Os resultados do estudo destacam a evolução das reações ao longo do tempo, revelando como a variabilidade inicial diminui progressivamente. Apesar de desvios padrão mais elevados

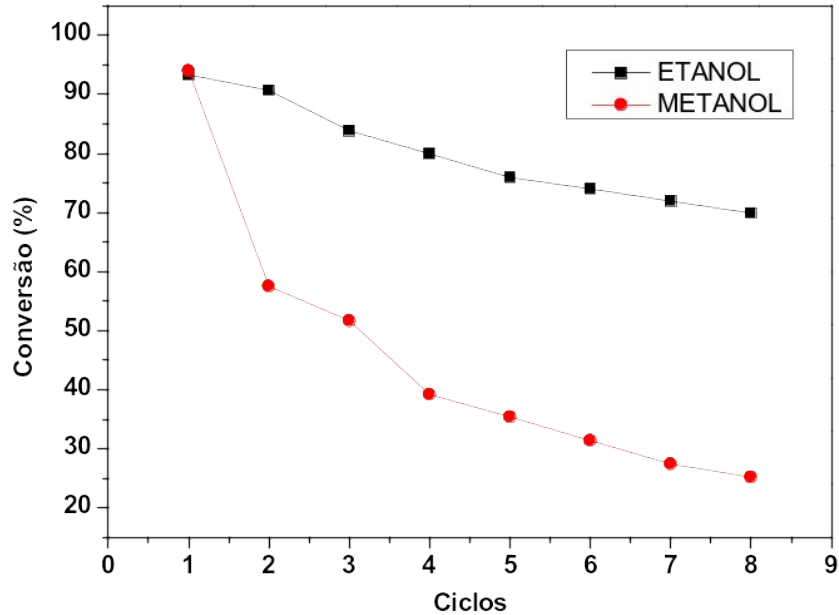
em tempos intermediários, como em 8 horas (2,92843 para etanol e 2,59018 para metanol), os dados mostram que em períodos mais longos, como em 72 horas, os desvios padrão são extremamente baixos (0,03932 para etanol e 0,00501 para metanol). Isso evidencia que, mesmo em condições experimentais complexas no início, as reações podem atingir alta consistência e reprodutibilidade em estágios mais avançados. Essa análise detalhada da evolução temporal, pouco explorada em outros estudos, reforça o cuidado metodológico empregado.

Em contraste, o estudo de (JUNIOR, 2022) apresenta maior consistência nas condições analisadas, com desvios padrão geralmente baixos, exceto no ciclo Babaçu/ET 2.0-NPM/etanol ($\pm 2,78$). Contudo, o presente trabalho vai além ao explorar detalhadamente as mudanças ao longo do tempo, permitindo identificar os desafios enfrentados nos estágios iniciais e como a estabilização da reação foi alcançada. Essa abordagem enriquece a interpretação dos dados e demonstra um rigor metodológico importante para a compreensão da cinética reacional. Enquanto (JUNIOR, 2022) se destaca pela variabilidade controlada, o presente estudo aprofunda a análise dinâmica, mostrando que, em condições estabilizadas, os resultados podem alcançar níveis de precisão comparáveis ou superiores.

4.3.1 Estabilidade Operacional

A estabilidade operacional foi comprovada ao longo de 8 ciclos consecutivos de 72 horas, conforme ilustrado na Figura 16. A proporção molar, a temperatura e a velocidade de melhoria seguiram as condições no estudo de (SOUZA, 2013).

Figura 16 – Análise Comparativa da Conversão de Etanol e Metanol ao Longo de Oito Ciclos de Reuso.



Fonte: Autor.

Os estudos de Nascimento (2022), Silva (2023) e o presente trabalho apresentam características semelhantes no que diz respeito à atividade da enzima imobilizada, embora se diferenciem nas condições experimentais e nos resultados obtidos. Essas variações permitem observar como diferentes fatores influenciam a eficiência enzimática ao longo dos ciclos de reuso.

No estudo de Nascimento (2022), realizado com três ciclos de 8 horas, a atividade da enzima imobilizada foi eficaz apenas no primeiro ciclo, com uma redução significativa nos ciclos seguintes. Isso sugere uma perda de atividade catalítica, possivelmente devido à duração limitada dos experimentos.

Silva (2023), por sua vez, utilizou ciclos de 1 hora e obteve uma conversão máxima de 88,44% no primeiro ciclo com o biocatalisador CALB-NPM/Etanol. Contudo, observou-se uma queda para 73% no segundo ciclo, estabilizando em 85% após três ciclos. Um padrão similar foi registrado com o biocatalisador CALB-NPM/Metanol, onde a conversão inicial caiu 56% no segundo ciclo, estabilizando em 81% após três reusos.

No presente estudo, que analisou a conversão ao longo de oito ciclos de 72 horas utilizando a enzima CALB com etanol e metanol, também foi observada uma diminuição

progressiva na atividade catalítica. O etanol apresentou conversão ligeiramente superior ao metanol, com 90% no primeiro ciclo, enquanto o metanol viu sua conversão cair de 94% para uma média de 57% nos ciclos subsequentes. Esses dados confirmam a tendência comum nos três estudos de redução da eficiência enzimática ao longo dos ciclos de reutilização.

Além disso, (CARNEIRO *et al.*, 2014) investigaram a produção de ésteres por esterificação enzimática utilizando lipase CALB imobilizada em quitosana. Sob condições otimizadas, como 8 horas de reação, 65 U.g⁻¹ de enzima, razão óleo:etanol de 1:1, 150 rpm e temperatura de 45 °C, a conversão alcançou 73,25%, com manutenção da atividade catalítica até o décimo ciclo. Isso demonstra como as condições experimentais e o tipo de suporte influenciam a estabilidade e o reuso da enzima.

Essa comparação entre os estudos evidencia a importância de otimizar as condições de reação, como a duração dos ciclos, o tipo de álcool utilizado e as condições de imobilização, a fim de manter a eficiência catalítica e garantir a viabilidade do uso contínuo da enzima em processos industriais.

4.4 Resultados Futuros

As amostras do material, consistindo de nanopartículas magnéticas puras, nanopartículas modificadas com APTES e nanopartículas funcionalizadas com APTES + glutaraldeído + enzima, foram encaminhadas para realização das seguintes caracterizações: Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Fluorescência de Raios-X (XRF), Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR), Difração de Raios-X (XRD) e análise de Magnetização. No entanto, devido a questões logísticas, os resultados dessas análises não estavam disponíveis a tempo para inclusão no presente trabalho.

5 CONCLUSÃO

Com base nos objetivos específicos e na metodologia desenvolvida, concluímos que a produção de biodiesel utilizando nanopartículas magnéticas funcionalizadas como suporte para imobilização da enzima lipase B de *Candida antarctica* (CALB) mostrou-se promissora. A revisão bibliográfica forneceu uma visão abrangente da produção de biodiesel no contexto nacional e internacional, realçando o potencial dos biocatalisadores para reações de esterificação de óleos residuais, especialmente quando comparados a métodos convencionais.

O processo de síntese de nanopartículas por coprecipitação e a posterior funcionalização da superfície, usando agentes como APTES e glutaraldeído, permitiram uma eficiente fixação enzimática por ligação covalente, com destaque para as propriedades de estabilidade e recuperação das enzimas. Os experimentos de esterificação, com uso de etanol e metanol, revelaram altas taxas de conversão, atingindo 90,64% com etanol e 94,64% com metanol após 72 horas de reação. Esse desempenho reforça a viabilidade da abordagem, que superou a eficiência de conversão encontrada em outros estudos.

A análise dos ciclos de reutilização do biocatalisador revelou uma leve perda de atividade enzimática, demonstrando a durabilidade do sistema enzimático empregado. Isso indica que o biocatalisador poderia ser uma solução econômica e sustentável para a produção de biodiesel. Essa investigação sugere, portanto, uma alternativa promissora e sustentável para o processamento de óleos residuais, contribuindo para um avanço significativo na tecnologia de produção de biodiesel.

Para trabalhos futuros, seria recomendável expandir as análises das características estruturais das nanopartículas e otimizar as condições de reação visando maior estabilidade catalítica em ciclos contínuos, buscando, assim, aprimorar o desempenho e a sustentabilidade desse processo.

REFERÊNCIAS

Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis 2024**. 2024. Accessed: 2024-11-04. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/anuario-estatistico-brasileiro-do-petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis-2024>>.

ALMEIDA, A. C. M. d.; COSTA, G. A. d. **Estimativa da viscosidade e densidade de óleos vegetais**. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

ALMEIDA, K. M. d.; MEDEIROS, E. P. d.; GOMES, J. P.; SOUSA, E. P. d.; SANTOS, J. W. d. Caracterização físico-química de misturas de óleos vegetais para fins alimentares. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, volume, n. número, p. páginas, out 2024. Acesso em 28 de outubro de 2024. Disponível em: <<http://revista.gvua.com.br>>.

ANP. **Produção e fornecimento de biocombustíveis: Biodiesel**. 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-de-biocombustiveis/biodiesel>>.

ARANSIOLA, E.; OJUMU, T.; OYEKOLA, O.; MADZIMBAMUTO, T.; IKHU-OMOREGBE, D. A review of current technology for biodiesel production: State of the art. **Biomass and Bioenergy**, v. 61, p. 276–297, 2014. ISSN 0961-9534. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953413004893>>.

BRITO, Y. C. **Esterificação e Transesterificação em Presença de Complexos de Titânio e Zircônio**. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Universidade Federal de Alagoas, Maceió, Alagoas, agosto 2008. Orientador: Prof. Dr. Simoni M. Plentz Meneghetti.

CARNEIRO, E. A.; MARQUES, M. L.; GONÇALVES, L. R. B. Esterificação enzimática de ácidos graxos de óleo de coco utilizando lipase de *Candida antarctica*. In: COBEQ. **Anais do 20º Congresso Brasileiro de Engenharia Química**. Florianópolis, 2014. p. 123–130.

CAVALCANTI, M. H. d. S. **Síntese e caracterização de nanopartículas magnéticas (Fe₃O₄) e seu uso como suporte para imobilização de lipase *Thermomyces lanuginosus* (TLL)**. 86 f. p. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Química)) — Universidade Federal de Alfenas, Alfenas/MG, 2020.

CHANG, J.; YANG, J.; XING, B.; HU, X.; XU, C.; ZHANG, H. Improvement of waste frying oil/cottonseed oil-based biodiesel properties by adjusting unsaturation and its effect on engine emission characteristics. **Biochemical Engineering Journal**, v. 206, p. 109299, 2024. ISSN 1369-703X. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X2400086X>>.

DALLA-VECCHIA, R.; NASCIMENTO, M. G.; SOLDI, V. Aplicações sintéticas de lipases imobilizadas em polímeros. **Química Nova**, v. 27, p. 623–630, 2004.

de Oliveira, V. F.; PARENTE, E. J.; MANRIQUE-RUEDA, E. D.; CAVALCANTE, C. L.; LUNA, F. M. T. 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. ISSN 0263-8762. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0263876220302513>>.

DIAS, J.; SANTOS, E.; SANTO, F.; CARVALHO, F.; ALVIM-FERRAZ, M.; ALMEIDA, M. Study of an ethylic biodiesel integrated process: Raw-materials, reaction optimization and purification methods. **Fuel Processing Technology**, v. 124, p. 198–205, 2014. ISSN 0378-3820. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378382014000964>>.

FERRAZ, J. L. A. A. e. a. Obtaining of microbial lipase: a brief review. **Revista Ciências exatas e naturais**, v. 20, n. 1, p. 30–54, 2018.

FONSECA, J. M.; TELEKEN, J. G.; de Cinque Almeida, V.; da Silva, C. Biodiesel from waste frying oils: Methods of production and purification. **Energy Conversion and Management**, v. 184, p. 205–218, 2019. ISSN 0196-8904. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0196890419301074>>.

Google Maps. **Mapa de Acarape - Ceará, Brasil**. <https://www.google.com.br/maps/@-4.2224262,-38.7120885,1444m/data=!3m1!1e3?entry=ttu&g_ep=EgoyMDI0MTAyOS4wIKXMDS0ASAFQAw%3D%3D>. Acessado em: 02 de novembro de 2024.

Instituto Adolfo Lutz. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Versão eletrônica. Disponível em: <http://www.ial.sp.gov.br/resources/editorinplace/ial/2016_3_19/analisedealimentosial_2008.pdf>.

Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás. **Evolução da produção de biocombustíveis no mundo**. 2024. Acesso em: 17 out. 2024. Disponível em: <<https://www.ibp.org.br/observatorio-do-setor/snapshots/evolucao-da-producao-de-biocombustiveis-no-mundo/>>.

JAEGER, K. E.; REETZ, M. T. Microbial lipases form versatile tools for biotechnology. **Trends in Biotechnology**, v. 16, n. 9, p. 396–403, 1998.

JUNIOR, J. B. **Síntese de biodiesel de babaçu e tucumã catalisado por enzimas lecitase e eversa**. Dissertação (Dissertação de Mestrado) — Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, Ceará, 2022. Mestrado em Energia e Ambiente.

KUMAR, V.; KAUSHIK, N. K.; SINGH, D.; SINGH, B. Exploring novel potential of mycosynthesized magnetic nanoparticles for phosphatase immobilization and biological activity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 280, p. 135740, 2024. ISSN 0141-8130. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813024065486>>.

LEITE, R. C. d. C.; LEAL, M. R. L. V. O biocombustível no brasil. **Novos Estudos - Cebrap, FapUNIFESP (SciELO)**, n. 78, p. 15–21, jul. 2007. Acesso em: 05 set. 2024. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/nec/a/8FyQn8jGsFVfzGZyst4CWbc/>>.

LI, D.; MEI, L.; DING, X.; ZHOU, D. Preparation of highly stable immobilized candida antarctica lipase b (calb) through adjusting the surface properties of carrier: Preparation, characterization and performance evaluation. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 280, p. 136356, 2024. ISSN 0141-8130. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813024071654>>.

LI, K.; XIE, W. Enhanced biodiesel production from low-value acidic oils using ordered hierarchical macro-mesoporous moal@h-sio2 catalyst. **Fuel**, v. 364, p. 131105, 2024. ISSN 0016-2361. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236124002515>>.

- MAGRIOTIS, Z. M.; MAGALHÃES, F.; SALES, P. F. d.; CORRÊA, R. d. A. B. L.; THOMASI, S. S. **Produção de biodiesel via esterificação e transesterificação utilizando práticas heterogêneas bifuncionais**. Tese (Doutorado) — Universidade Federal de Lavras, Lavras, Brazil, dec 2023. Tese (Doutorado em Agroquímica). Disponível em: <<http://repositorio.ufla.br/jspui/handle/1/58643>>.
- MEDEIROS, C. R. **Otimização da síntese de ésteres usados na indústria de sabores e aromas**. Florianópolis, 2008. 46 f. p.
- MIRANDA, J. S. *et al.* Immobilization of *Thermomyces lanuginosus* lipase on mesoporous polyhydroxybutyrate particles and application in alkyl esters synthesis: Isotherm, thermodynamic and mass transfer studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 251, p. 392–403, 2014.
- NASCIMENTO, J. G. A. d. **Valorização de óleo residual por catálise enzimática suportada em nanopartículas magnéticas para produção de biodiesel**. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente)) — Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, Ceará, 2022.
- NETTO, C. G.; ANDRADE, L. H.; TOMA, H. E. Enantioselective transesterification catalysis by candida antarctica lipase immobilized on superparamagnetic nanoparticles. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, n. 19, p. 2299–2304, 2009. ISSN 0957-4166. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0957416609006508>>.
- PARANDI, E.; SAFARIPOUR, M.; ABDELLATTIF, M. H.; SAIDI, M.; BOZORGIAN, A.; Rashidi Nodeh, H.; REZANIA, S. Biodiesel production from waste cooking oil using a novel biocatalyst of lipase enzyme immobilized magnetic nanocomposite. **Fuel**, v. 313, p. 123057, 2022. ISSN 0016-2361. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0016236121029173>>.
- PARANDI, E.; SAFARIPOUR, M.; MOSLEH, N.; SAIDI, M.; Rashidi Nodeh, H.; ORYANI, B.; REZANIA, S. Lipase enzyme immobilized over magnetic titanium graphene oxide as catalyst for biodiesel synthesis from waste cooking oil. **Biomass and Bioenergy**, v. 173, p. 106794, 2023. ISSN 0961-9534. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953423000922>>.
- PEDRO, K. C. N. R. **Avaliação da imobilização de preparações enzimáticas contendo lipases e seu emprego em reações de síntese de biodiesel**. 189 p. Tese (Tese de Doutorado) — Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, Brasil, 2018.
- PEDRO, K. C. N. R.; FERREIRA, I. E. P.; HENRIQUES, C. A.; LANGONE, M. A. P. Enzymatic fatty acid ethyl esters synthesis using acid soybean oil and liquid lipase formulation. **Chemical Engineering Communications**, v. 207, p. 43 – 55, 2020. Disponível em: <<https://api.semanticscholar.org/CorpusID:104382928>>.
- Prefeitura Municipal de Acarape. **Prefeitura Municipal de Acarape recebe o primeiro biodigestor de pequeno porte do Brasil**. 2024. Acesso em: 2 nov. 2024. Disponível em: <<https://acarape.ce.gov.br/informa/55/prefeitura-municipal-de-acarape-recebe-o-primeiro>>.
- QUETTIER, A. L.; EASTMOND, P. J. Storage oil hydrolysis during early seedling growth. **Plant Physiology and Biochemistry**, v. 47, n. 6, p. 485–490, 2009.

RAJENDRAN, A.; PALANISAMY, A.; THANGAVELU, V. Lipase catalyzed ester synthesis for food processing industries. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 52, n. 1, p. 207–219, 2009.

SANTANA, G. **Simulação e análise de custos na produção de biodiesel a partir de óleos vegetais**. Tese (Tese (Doutorado em Engenharia Química)) — Universidade Federal de Campinas, Campinas, São Paulo, Brazil, 2008.

SANTIN, C. M. T.; OLIVEIRA, D. d.; OLIVEIRA, J. V. d. Análise comparativa entre o óleo de soja e o óleo de macaúba na produção de ésteres etílicos em modo contínuo. In: **Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014**. São Paulo: Blucher, 2015. (Blucher Chemical Engineering Proceedings, 2), p. 7770–7777. ISSN 2359-1757.

SANTOS, K. M. d. **Síntese do Oleato de Etila Catalisada por Enzima Novozym Transform 2.0 Imobilizada em Nanopartículas Magnéticas**. Dissertação (Mestrado) — Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, Ceará, 2023. Programa de Pós-Graduação em Energia e Ambiente.

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.

SHALINI, P. e. a. Synthesis and characterisation of lipase immobilised magnetic nanoparticles and its role as a catalyst in biodiesel production. In: **Materials Today: Proceedings**. [S.l.: s.n.], 2021.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; CHAND, U. Production, purification, characterization, and applications of lipases. **Biotechnology Advances**, v. 19, p. 627–662, 2001.

SHELDON, R. A.; PELT, S. van. Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. **Chem. Soc. Rev.**, The Royal Society of Chemistry, v. 42, p. 6223–6235, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1039/C3CS60075K>>.

SILVA, J. B. **Produção de acetato de isoamila via esterificação enzimática em sistema livre de solvente**. 76 f. p. Dissertação (Dissertação (Mestrado)) — Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, 2014. Curso de Pós-graduação em Engenharia de Alimentos, Departamento de Ciências Agrárias.

SILVA, M. P. F. **Síntese de biodiesel a partir do óleo de pequi através de biocatalisadores enzimáticos contendo CALB e Everase Transform 2.0 imobilizadas em nanopartículas magnéticas**. Dissertação (Dissertação (Mestrado em Energia e Ambiente)) — Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Redenção, Ceará, 2023.

SOUSA, I. G. d. **Desenvolvimento de biocatalisadores enzimáticos utilizando suportes híbridos de quitosana e agarose contendo lipase Eversa Transform 2.0 e sua aplicação na síntese de biolubrificantes**. 2022. <<https://repositorio.unilab.edu.br/jspui/handle/123456789/3155>>. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em [Nome do Curso]) - Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Baturité.

SOUZA, M. C. M. d. **Imobilização de lipase de *Candida antarctica* do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. 135 p. Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

SOUZA, M. C. M. d.; SANTOS, K. P. d.; FREIRE, R. M.; BARRETO, A. C. H.; FECHINE, P. B. A.; GONÇALVES, L. R. B. Production of flavor esters catalyzed by lipase b from *Candida antarctica* immobilized on magnetic nanoparticles. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, Brazilian Society of Chemical Engineering, v. 34, n. 3, p. 681–690, Jul 2017. ISSN 0104-6632. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0104-6632.20170343s20150575>>.

Toda Matéria. **Transesterificação**. n.d. Acesso em: 19 out. 2024. Disponível em: <<https://static.todamateria.com.br/upload/tr/an/transferificacao.jpg>>.

VERMELHO, A. B.; PAIVA, C. L. A.; ALENCASTRO, R. B. d.; COELHO, R. R. Enzimas em biotecnologia: Produção, aplicação e mercado. In: **Capítulos de Livros I Bioetanol**. Rio de Janeiro, RJ: Interciencia, 2008. Acesso em: 03 mar. 2022. Disponível em: <<https://bioetanol-ufrrj.com.br>>.

XIE, W.; HUANG, M. Fabrication of immobilized *Candida rugosa* lipase on magnetic Fe₃O₄-poly(glycidyl methacrylate-co-methacrylic acid) composite as an efficient and recyclable biocatalyst for enzymatic production of biodiesel. **Renewable Energy**, v. 158, p. 474–486, 2020. ISSN 0960-1481. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960148120308776>>.

ZIENIUK, B.; STĘPNIEWSKI, T. M.; FABISZEWSKA, A. Do they make a good match? molecular dynamics studies on CALB-catalyzed esterification of 3-phenylpropionic and cinnamic acids. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 750, p. 109807, 2023. ISSN 0003-9861. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986123003065>>.