



# Síntese de biodiesel utilizando diferentes matérias-primas por rota química e enzimática

Claudio Roberto Almeida de Abreu  
Gabriela Montenegro Short Santa Cecília  
Thaís Oliveira de Siqueira

## Projeto Final de Curso

Orientadores  
Tatiana Felix Ferreira, D.Sc.  
Tamires Carvalho dos Santos, D.Sc.

Fevereiro de 2018

# **SÍNTESE DE BIODIESEL UTILIZANDO DIFERENTES MATÉRIAS-PRIMAS POR ROTA QUÍMICA E ENZIMÁTICA**

***Claudio Roberto Almeida de Abreu***  
***Gabriela Montenegro Short Santa Cecília***  
***Thaís Oliveira de Siqueira***

Projeto Final de Curso submetido ao Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química.

Aprovado por:

---

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

---

Cristiane Gimenes de Souza, M.Sc.

---

Adejanildo da Silva Pereira, M.Sc.

Orientado por:

---

Tatiana Felix Ferreira, D.Sc.

---

Tamires Carvalho dos Santos, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Fevereiro de 2018

## Ficha Cartográfica

Abreu, Claudio.

Montenegro, Gabriela.

Siqueira, Thais.

Síntese de biodiesel utilizando diferentes matérias-primas por rota química e enzimática / Claudio Roberto Almeida de Abreu, Gabriela Montenegro Short Santa Cecília, Thaís Oliveira de Siqueira. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2018.

x, 54 p.; il.

(Projeto Final) – Universidade federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2018.

Orientadores: Tatiana Felix Ferreira e Tamires Carvalho dos Santos.

1. Biodiesel. 2. Lipase. 3. Transesterificação. 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ)

5. Tatiana Felix Ferreira, Tamires Carvalho dos Santos. I. Produção de biodiesel utilizando diferentes matérias-primas por rota química e enzimática.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente, agradecemos a Deus por ter nos permitido concluir essa etapa tão importante em nossas vidas.

Aos pais, Ana e Roberto (Claudio), Andrea (Gabriela), Angela e Harry (Thais) por todo amor e dedicação que nos foi dado.

Aos familiares, especialmente Elisangela (Thais), cuja compreensão e carinho foram essenciais ao longo da vida.

Aos amigos, por todo apoio emocional e paciência nos tempos difíceis.

Aos namorados, Pamela (Gabriela), Natan (Thais), que sempre estiveram ao nosso lado, nos amparando e nos ajudando nos momentos de turbulência.

As nossas orientadoras, pelas sugestões, críticas e comprometimento em realizar um ótimo trabalho.

A todos os que participaram direta ou indiretamente deste projeto.

Resumo do Projeto Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos para obtenção do grau de Bacharel em Engenharia Química.

## **SÍNTESE DE BIODIESEL UTILIZANDO DIFERENTES MATÉRIAS PRIMAS POR ROTA QUÍMICA E ENZIMÁTICA**

Claudio Roberto Almeida de Abreu  
Gabriela Montenegro Short Santa Cecília  
Thaís Oliveira de Siqueira

Fevereiro, 2018

Orientadores: Tatiana Felix Ferreira, D.Sc.

Tamires Carvalho dos Santos, D.Sc.

### **RESUMO**

Com a crescente busca pela substituição de combustíveis de origem fóssil, o biodiesel surge como uma excelente fonte de energia alternativa. Além de ser uma fonte renovável, também é biodegradável. Apesar das vantagens, sua produção tradicionalmente realizada por via catálise alcalina gera subprodutos indesejáveis ao meio ambiente. Objetivando a redução desses subprodutos, rotas enzimáticas têm sido estudadas para possível futura implementação. De forma a avaliar o potencial da enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* produzida em nosso laboratório foram produzidos biodiesel por diferentes rotas a partir de diferentes matérias-primas. Utilizou-se óleo de soja refinado, óleo de buriti bruto e óleo de fritura usado e foram realizadas síntese química através de catálise alcalina homogênea e síntese enzimática utilizando uma lipase comercial e uma lipase produzida por nosso grupo de pesquisa. Após a caracterização dos produtos obtidos nas sínteses por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), constatou-se que as duas enzimas não foram capazes de converter os óleos utilizados em ésteres nas condições reacionais utilizadas. Assim, não foi possível confirmar o potencial da nossa lipase para aplicação na síntese de biodiesel.

## ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVO.....	3
2.1. Objetivo Geral .....	3
2.2. Objetivos Específicos.....	3
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
3.1. Biodiesel.....	4
3.1.1. Matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel.....	7
3.1.1.1. A escolha do álcool .....	8
3.1.1.2. Características dos óleos a serem utilizados.....	9
3.2. Lipases .....	12
3.3. Produção de biodiesel.....	17
3.3.1. Transesterificação alcalina homogênea .....	17
3.3.2. Transesterificação ácida homogênea.....	18
3.3.3. Transesterificação via catálise heterogênea .....	18
3.3.4. Produção em meio supercrítico .....	19
3.3.5. Rota enzimática .....	19
4. MATERIAIS E MÉTODOS .....	23
4.1. Materiais.....	23
4.2. Equipamentos .....	23
4.3. Metodologia.....	24
4.3.1. Determinação do índice de acidez dos óleos .....	24
4.3.2. Produção de biodiesel .....	24
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	31
5.1. Acidez dos óleos .....	31

5.2. Caracterização dos óleos utilizados e do biodiesel produzido.....	32
5.2.1. Óleos utilizados .....	32
5.2.2. Via catálise alcalina homogênea .....	34
5.2.3. Via rota enzimática utilizando enzima comercial.....	36
5.2.3.1. Após 24 horas de síntese .....	36
5.2.3.2. Após o período de 72 horas de síntese .....	39
5.2.4. Via rota enzimática utilizando a lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> .....	41
5.2.4.1. Após o período de 24 horas de síntese .....	41
5.2.4.2. Após o período de 72 horas de síntese .....	43
6. CONCLUSÃO.....	46
7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS.....	47
8. REFERÊNCIAS.....	48

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Ranking mundial de produção de biodiesel em bilhões de litros por ano em 2016. ....	5
Figura 2: Capacidade de produção de biodiesel por região do Brasil.....	6
Figura 3: Reação geral para obtenção de biodiesel.....	8
Figura 4: Estrutura tridimensional da lipase obtida através da <i>Yarrowia lipolytica</i> . (a) Conformação aberta. (b) Conformação fechada. ....	13
Figura 5: Comportamento cinético. ....	14
Figura 6: Produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea.....	25
Figura 7: Secagem e filtração do biodiesel produzido. ....	26
Figura 8: Liofilização da enzima produzida por <i>Yarrowia lipolytica</i> . ....	27
Figura 9: Produção de biodiesel via rota enzimática.....	28
Figura 10: Etapa de Centrifugação. ....	28
Figura 11: Equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), da marca Dionex, modelo UltiMate 3000. ....	30
Figura 12: Cromatograma para o óleo de fritura. ....	32
Figura 13: Cromatograma para o óleo de soja.....	32
Figura 14: Cromatograma para o óleo de buriti. ....	33
Figura 15: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de fritura. ....	34
Figura 16: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de soja.....	35
Figura 17: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de buriti.....	35
Figura 18: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de fritura. ....	37
Figura 19: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de soja. ....	37
Figura 20: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de buriti. ....	38



Figura 21: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de fritura. ....	39
Figura 22: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de soja. ....	39
Figura 23: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de buriti. ....	40
Figura 24: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 24 horas utilizando óleo de fritura. ....	41
Figura 25: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 24 horas utilizando óleo de soja. ....	42
Figura 26: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 24 horas utilizando óleo de buriti. ....	42
Figura 27: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 72 horas utilizando óleo de fritura. ....	44
Figura 28: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 72 horas utilizando óleo de soja. ....	44
Figura 29: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 72 horas utilizando óleo de buriti. ....	45

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Índices de acidez dos óleos utilizados na produção de biodiesel. ....	31
Tabela 3: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada óleo e o respectivo percentual de ésteres .....	33
Tabela 2: Volume de biodiesel gerado para cada óleo utilizado. ....	34
Tabela 4: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via catálise alcalina ácida e o respectivo percentual de ésteres. ....	36
Tabela 5: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima comercial para o período de 24 horas e o respectivo percentual de ésteres. ....	38
Tabela 6: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima comercial para o período de 72 horas e o respectivo percentual de ésteres. ....	40
Tabela 7: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> após o período de 24 horas e o respectivo percentual de ésteres. ....	43
Tabela 8: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima lipase de <i>Yarrowia lipolytica</i> para o período de 72 horas e o respectivo percentual de ésteres. ....	45

## ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1: Comparação entre propriedades do biodiesel e do diesel. ....	6
Quadro 2: Principais ácidos graxos conhecidos na natureza. ....	9
Quadro 3: Oleaginosas cultivadas no Brasil com potencial para produção de biodiesel. ....	11
Quadro 4: Principais aplicações de lipases na indústria química. ....	15
Quadro 5: Rendimento obtido na produção de biodiesel via rota enzimática através de diferentes condições de processo. ....	21
Quadro 6: Comparação entre as principais rotas de produção do biodiesel. ....	22

## 1. INTRODUÇÃO

O diesel é um dos principais combustíveis utilizados no Brasil, representando mais de 50% do consumo total de combustíveis veiculares. O óleo diesel é um derivado de petróleo constituído por hidrocarbonetos de 10 a 25 átomos de carbono com faixa de destilação, comumente situada entre 150°C e 400°C (FARAH, 2012). Entretanto, com a crescente preocupação ambiental causada pelo aumento do CO<sub>2</sub> na atmosfera, proveniente da queima de combustíveis fósseis, substitutos para o óleo diesel provenientes de matérias-primas renováveis, como óleos e gorduras, têm ganhado importância no mercado nos últimos anos (PERLINGEIRO, 2014).

A Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) define o biodiesel como um “combustível composto de álquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais” conforme a especificação vigente. De acordo com essa definição, para ser considerado biodiesel puro, o combustível deve obedecer à determinada norma de qualidade. As três principais normas vigentes nos três maiores produtores de biodiesel do mundo (União Europeia, Estados Unidos e Brasil) são, respectivamente, a EN 14214, a ASTM D6751 e a ANP nº 4/2012 (ANP, 2012; QUELHAS, 2012).

O biodiesel é obtido principalmente através da reação de transesterificação de óleos e gorduras com álcoois de cadeia relativamente pequena, geralmente metanol ou etanol, na presença de um catalisador. Nesse processo, há a formação de moléculas de ésteres de ácidos graxos, que é denominada de biodiesel, e a produção de glicerina. A rota mais utilizada para a produção de biodiesel é a transesterificação alcalina, utilizando KOH ou NaOH como catalisadores. Essa preferência se deve ao maior rendimento obtido, menor tempo de reação requerido, menor temperatura do meio reacional e menor razão molar álcool/óleo (AGUIEIRAS et al, 2014).

O uso de biodiesel como combustível é vantajoso, entre outros aspectos, por ser uma fonte de energia renovável, decompor-se facilmente por via biológica,

em caso de acidentes, e apresentar baixo risco de explosão (temperatura de autoignição 175°C), facilitando seu transporte e armazenamento. Em contrapartida, uma quantidade elevada de glicerina é obtida como subproduto na produção de biodiesel, que só consegue ser introduzida no mercado atual a preços muito pequenos (YOUNG, 2015).

Outra rota tecnológica emergente para a produção de biodiesel é a catálise enzimática. O uso de lipases (glicerol éster hidrolases) permite teores mais elevados de ácidos graxos livres e água na matéria-prima. Sua principal vantagem é o uso de condições mais brandas de reação, visto que as lipases trabalham na faixa de 30 a 60°C. Entretanto, a rota enzimática apresenta tempo de reação relativamente elevado comparado às rotas químicas e o custo das enzimas ainda é muito alto, o que dificulta sua implementação a nível industrial (YOUNG, 2015).

O objetivo deste trabalho é produzir biodiesel utilizando rota química e rota enzimática a partir de diferentes matérias-primas a fim de investigar o potencial da enzima lipase produzida em nosso laboratório na síntese de biodiesel.

## **2. OBJETIVO**

### **2.1. Objetivo Geral**

O objetivo geral do presente trabalho consistiu em produzir biodiesel através de rota química e enzimática, utilizando diferentes óleos vegetais como matérias-primas, visando investigar o potencial da lipase produzida em nosso laboratório na produção de biodiesel.

### **2.2. Objetivos Específicos**

Para atingir o objetivo geral anteriormente descrito, os objetivos específicos foram:

- 1) Determinação do teor de acidez nos óleos utilizados na síntese de biodiesel (óleo de soja refinado, óleo de buriti bruto e de óleo de fritura usado).
- 2) Síntese de biodiesel via catálise alcalina homogênea a partir das três diferentes matérias-primas citadas.
- 3) Síntese de biodiesel via enzimática a partir das três diferentes matérias-primas citadas utilizando uma lipase comercial.
- 4) Síntese de biodiesel via enzimática a partir das três diferentes matérias-primas citadas utilizando a lipase produzida em nosso laboratório.
- 5) Caracterização dos produtos obtidos através de análises em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).
- 6) Comparação dos graus de conversão das sínteses realizadas.

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

#### **3.1. Biodiesel**

Desde o surgimento do movimento ambientalista vem-se discutindo alternativas energéticas em substituição às fontes de origem fóssil. Tais discussões foram reforçadas após a crise do petróleo de 1970, onde estas passaram a ser prioridade devido à alta e crescente dependência da população por energia (TAPANES et al., 2013).

O aumento da demanda mundial atrelado a contínua elevação do preço do barril de petróleo e as questões ambientais associadas à queima de combustíveis fósseis são fatores que evidenciam a urgência da exploração de novas fontes energéticas (LÔBO et al., 2009).

Nesse contexto, os biocombustíveis, quando derivados de matérias-primas renováveis e produzidos por processos de reconhecida sustentabilidade ambiental, surgiram como alternativas de amplo interesse social e político, particularmente quando o seu uso não exige adequações significativas na tecnologia atualmente empregada nos motores de combustão. Apesar de já ter atingido certo equilíbrio em economias mais fortes como Alemanha, Estados Unidos e França, esta cadeia continua a se expandir em economias emergentes, como o Brasil, onde se consolidou como um projeto de amplo interesse científico, tecnológico, político e econômico (RAMOS et al., 2017).

A Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) define biodiesel no Artigo 2º da Resolução nº25 de 2 de setembro de 2008 como “combustível composto de alquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais”. O prefixo “bio” remete à origem biológica e renovável do combustível, contrastando com o caráter não renovável do diesel tradicional proveniente do petróleo. O sufixo “diesel”, por sua vez, diz respeito ao fato de que o mesmo pode ser utilizado em motores de Ciclo Diesel (motores de ignição por compressão interna), puro ou em misturas com o diesel tradicional (YOUNG et al., 2015).

Atualmente, é crescente o estudo e a utilização do biodiesel a nível mundial. Além de renovável e livre de enxofre e compostos aromáticos, a adoção do biodiesel resulta em uma redução significativa das emissões de materiais particulados, óxidos de enxofre e gases que contribuem para o efeito estufa e chuvas ácidas. A difusão do biocombustível, a longo prazo, proporciona maior qualidade de vida à população e, como consequência, podendo gerar um declínio nos gastos com saúde pública, possibilitando o redirecionamento de verbas para outros setores, como educação e previdência (SOUZA, 2010).

A produção e o consumo de biodiesel no Brasil foram determinados por meio da Medida Provisória nº. 214/2004, convertida na Lei nº. 11.097/05. Esta, contida no Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), pode ser considerada como um marco na história do biodiesel no Brasil, uma vez que é a partir dela que se encontra um sustentáculo jurídico na legislação brasileira (TAPANES et al., 2013). A Figura 1 mostra a posição do Brasil no ranking mundial de produção de biodiesel em bilhões de litros por ano em 2016.

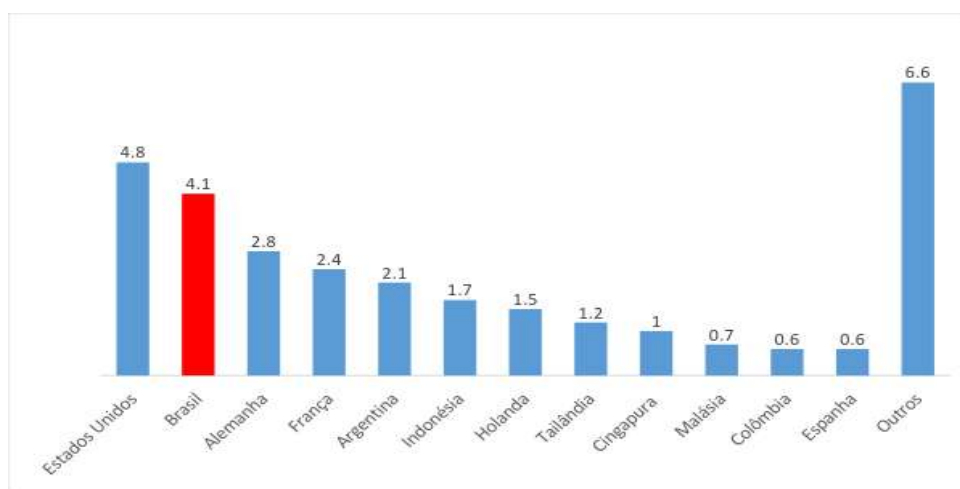


Figura 1: Ranking mundial de produção de biodiesel em bilhões de litros por ano em 2016.

Fonte: REN 21

Segundo o Boletim Mensal do Biodiesel, em fevereiro de 2017 existiam 51 plantas produtoras de biodiesel autorizadas pela ANP para operação no país, correspondendo a uma capacidade total autorizada de 20.930,81 m<sup>3</sup>/dia. Como demonstrado na Figura 2, as maiores regiões detentoras da capacidade de



produção são as Região Centro-Oeste e Sul, seguidas das Regiões Sudeste, Nordeste e Norte (ANP).

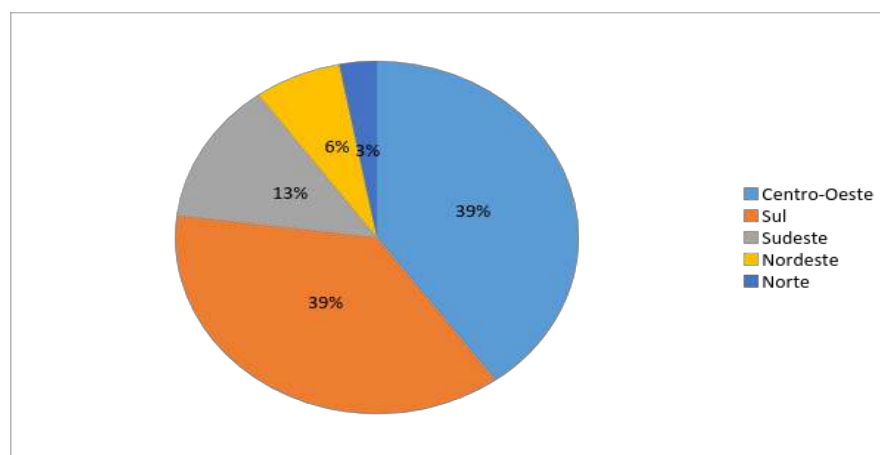


Figura 2: Capacidade de produção de biodiesel por região do Brasil.

Fonte: SANTOS (2017)

Embora que o preço do biodiesel ainda não seja competitivo com relação ao preço do diesel tradicional, a sua adição ao diesel petroquímico pode contribuir com uma série de vantagens (YOUNG et al., 2015). O Quadro 1 apresenta um cenário comparativo entre propriedades do biodiesel e do diesel tradicional.

Quadro 1: Comparação entre propriedades do biodiesel e do diesel.

Propriedades	Biodiesel	Diesel
Poder calorífico inferior (Btu/gal)	118,17	129,05
Viscosidade Cinemática (mm <sup>2</sup> /s a 40°C)	4,0 a 6,0	1,3 a 4,1
Peso específico (kg/L a 60°F)	0,88	0,85 a 0,88
Densidade (lb/gal a 15°C)	7,328	7,079
Carbono (% massa)	77	87
Hidrogênio (% massa)	12	13
Oxigênio (% massa)	11	0
Enxofre (% massa)	0,0 a 0,0024	Máx 0,05
Ponto de ebulição (°C)	315 a 350	180 a 340
Ponto de inflamação (°C)	100 a 170	60 a 80

Fonte: YOUNG et al. (2015)

Embora o biodiesel, forneça uma quantidade de energia menor que o diesel de petróleo, cerca de 10%, seu desempenho no motor é praticamente o mesmo no que diz respeito ao torque e a potência (LOTERO et al., 2005). Por outro lado, por ser mais viscoso, o biodiesel proporciona maior lubricidade que o diesel mineral, gerando menor desgaste das partes móveis do motor (LÔBO et al., 2009).

De acordo com cenários pesquisados a produção de biocombustíveis, em especial o biodiesel, tem tendência de crescimento com possibilidade de duplicação na produção mundial até 2035 a 2040 (FERNANDES et al., 2015).

Além disso, estudos projetam que em 2050 a produção brasileira possa chegar a mais de 10 bilhões de litros. De acordo com a nota técnica DEA 13/14 da Empresa de Pesquisa e Energia (EPE), a capacidade instalada de produção de biodiesel no Brasil é de cerca de 8,2 bilhões de litros (SOARES, 2016).

### **3.1.1. Matérias-primas utilizadas na produção de biodiesel**

O biodiesel é produzido fundamentalmente a partir de duas classes de matérias-primas: compostos graxos e álcoois de cadeia curta. A natureza e características desses compostos é fator determinante das propriedades do combustível que se deseja produzir. Logo, a escolha dos compostos a serem utilizados na produção demanda uma série de considerações econômicas, políticas e sociais (YOUNG et al., 2015).

Para a obtenção tradicional do biodiesel, recorre-se a transesterificação, reação orgânica em que um triglicerídeo, presente nos óleos e gorduras, e um mono álcool de cadeia curta, geralmente metanol ou etanol, na presença de um catalisador (ácido ou base) reagem produzindo uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol (GIACOMIN et al., 2016). A Figura 3 ilustra uma reação genérica para a produção de biodiesel.

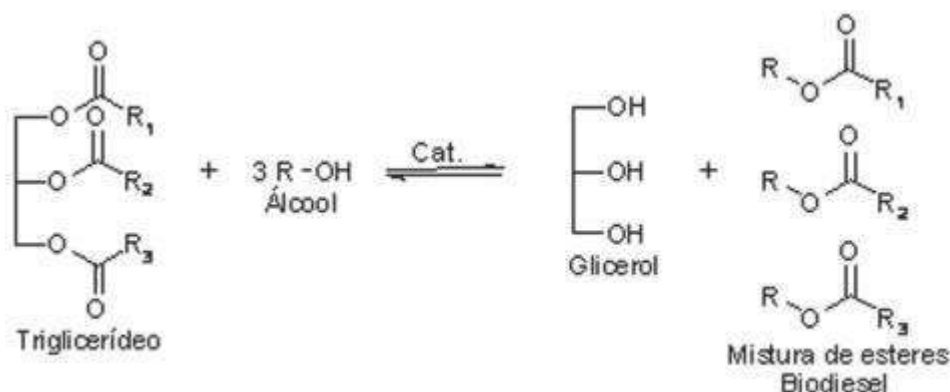


Figura 3: Reação geral para obtenção de biodiesel.

Fonte: GIACOMIN (2016).

### 3.1.1.1. A escolha do álcool

Para se fazer uma transesterificação, a via mais comum de produção de biodiesel, usualmente utiliza-se álcoois de cadeia química curta, dentre eles metanol, etanol, propanol e butanol. Atualmente, metanol e etanol são os álcoois mais utilizados para a produção de biodiesel (SOARES, 2016).

O metanol se destaca devido a sua cadeia mais curta, o que o torna mais reativo, e, conseqüentemente implica em menor temperatura e tempo de reação, barateando a produção (POPPE, 2012). Além disso, ele possui menor custo quando comparado aos outros álcoois, tem sua recuperação na rota produtiva menos onerosa e está mais adaptado ao uso no maquinário importado das usinas brasileiras (SOARES, 2016). Por outro lado, embora ele tenha boa reatividade com os catalisadores químicos convencionais (base e ácidos fortes), apresenta elevada toxicidade à saúde humana, podendo causar cegueira e câncer (SOUZA, 2010).

O etanol, além de ter produção consolidada no Brasil, é consideravelmente menos tóxico, é renovável e produz biodiesel com maior número de cetano e lubricidade. Porém uma grande desvantagem do etanol está no fato deste promover uma maior dispersão da glicerina no biodiesel, devido a maior interação destes, dificultando a sua separação. Para a obtenção de maiores rendimentos na reação de transesterificação costuma-se utilizar excesso de álcool, o que também facilita a separação da glicerina (LÔBO et al., 2009).

### 3.1.1.2. Características dos óleos a serem utilizados

Os óleos e gorduras são substâncias hidrofóbicas (insolúveis em água) que pertencem à classe química dos lipídeos, podendo ser de origem animal, vegetal ou microbiana (RAMOS et al., 2017).

O maior problema encontrado na produção de biodiesel pelos processos convencionais de transesterificação está na aquisição de matérias-primas, que devem ser de acidez e teor de umidade reduzidos (característica atendida pelos óleos vegetais refinados), o que gera um custo elevado e inviabiliza o uso de diversas oleaginosas (SANTOS et al., 2015).

O composto graxo mais elementar é o ácido graxo. Este consiste em um ácido monocarboxílico (possui um único grupo funcional carboxila) de cadeia longa que é sintetizado nos organismos vivos a partir de acetil-CoA. Os ácidos graxos, que podem possuir uma ou mais insaturações na sua porção hidrofóbica, são usados na construção de lipídeos, que por sua vez desempenham diversas funções vitais. Dentre os lipídeos encontram-se os triglicerídeos, ésteres formados por um mol de glicerol e três moles de ácidos graxos, iguais ou diferentes entre si. Entre os triglicerídeos formados pelo organismo, as cadeias graxas podem variar quanto ao comprimento e número assim como quanto a orientação e posição das duplas ligações. Dependendo da origem dos lipídeos, eles costumam ser classificados como óleos ou gorduras (YOUNG et al., 2015). O Conselho Nacional de Normas e Padrões para Alimentos (CNNPA) define a temperatura de 20 °C como o limite inferior para o ponto de fusão das gorduras, classificando como óleo quando o ponto de fusão se situa abaixo de tal temperatura (RAMOS et al., 2017). O Quadro 2 apresenta os principais ácidos graxos conhecidos na natureza e seus respectivos símbolos e fórmulas.

Quadro 2: Principais ácidos graxos conhecidos na natureza.

Ácido Graxo	Nome Sistemático	Símbolo	Fórmula
Butírico	butanóico	C4 ou C4:0	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>

Capróico	hexanóico	C6 ou C6:0	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Caprílico	octanóico	C8 ou C8:0	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Cáprico	decanóico	C10 ou C10:0	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Otusílico	cis-4-decenóico	C10:1(n4)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Caproleico	cis-9-decenóico	C10:2(n9)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Láurico	dodecanóico	C12 ou C12:0	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
Lauroleico	cis-5-lauroleico	C12:1(n5)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Lindérico	cis-4-dodecenóico	C12:1(n4)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Mirístico	tetradecanóico	C14 ou C14:0	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
Miristoleico	cis-9-tetradecenóico	C14:1(n9)	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
Tsuçuico	cis-4-tetradecenóico	C14:1(n4)	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
Palmítico	hexadecanóico	C16 ou C16:0	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Palmitoleico	cis-9-hexadecenóico	C16:1(n9)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Estearico	octadecanóico	C18 ou C18:0	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
Petroselínico	cis-6-octadecenóico	C18:1(n6)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Oleico	cis-9-octadecenóico	C18:1(n9)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Eládico	trans-9-octadecenóico	C18:1(tn9)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Vaccênico	cis-11-octadecenóico	C18:1(n11)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Linoleico	cis-9,cis-12-octadecadienóico	C18:2(n9,12)	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Linolênico	cis-9,cis-12,cis-15-octadecatrienóico	C18:3(n9,12,15)	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Ricinoleico	12-hidroxi-cis-9-octadecenóico	C18:1(n9):OH(n12)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
Araquídico	eicosanóico	C20 ou C20:0	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>
Gadoleico	cis-9-eicosenóico	C20:1(n9)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
Gadóico	cis-11-eicosenóico	C20:1(n11)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
Araquidônico	cis-6,cis-9,cis-12,cis-15-eicostetraenóico	C20:4(n6,9,12,15)	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Behênico	docosanóico	C22 ou C22:0	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>
Cetoleico	cis-11-docosenóico	C22:1(n11)	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>
Erúcico	cis-13-docosenóico	C22:1(n13)	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>
Lignocérico	tetracosanóico	C24 ou C24:0	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>
Nervônico	cis-15-tetracosenóico	C24:1(n15)	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>

Fonte: (RAMOS et al. (2017))

No mundo, as duas matérias-primas mais utilizadas para a produção de biodiesel são a soja e a palma (ou dendê) (YOUNG, 2015). O Brasil, por ser detentor de uma grande extensão territorial, apresenta ampla diversidade de matérias-primas para a produção de biodiesel, como a soja, o girassol, a mamona, o milho, o pinhão-manso, o caroço de algodão, a canola, o babaçu, o buriti, o dendê, a macaúba e o amendoim, além das de origem animal como o sebo bovino e as gorduras de frango e de suínos. Óleos de descarte, óleos de vísceras de peixes e óleos usados para cocção de alimentos (óleo de fritura) também são utilizados como matérias-primas alternativas (RAMOS et al., 2017).

Já foram identificadas mais de 350 espécies de plantas com potencial para utilização na produção de biodiesel. No entanto, é importante ressaltar que as propriedades químicas e físicas da matéria prima estão diretamente associadas à tecnologia e ao rendimento do processo de conversão e, conseqüentemente, às variações na qualidade final do produto para fins combustíveis. A princípio, ésteres alquílicos de ácidos graxos podem ser produzidos a partir de qualquer tipo de matéria-prima oleaginosa, mas nem toda matéria-prima pode ser utilizada para a obtenção de um produto que atenda às especificações internacionais do biodiesel. Isso ocorre devido as propriedades não ideais de algumas oleaginosas, que são transferidas para o biocombustível, e que o torna inadequado para uso direto em motores do ciclo Diesel. Exemplificando, uma propriedade indesejada é a baixa estabilidade à oxidação do óleo, que torna o armazenamento do biodiesel mais complexo e compromete o seu uso direto em motores (RAMOS et al., 2017). O Quadro 3 apresenta as principais oleaginosas com predisposição para a produção de biodiesel no Brasil.

Quadro 3: Oleaginosas cultivadas no Brasil com potencial para produção de biodiesel.

Cultivar	Óleo (%)	Rendimento de óleo (kg/ha)
Palma (fruto)	22	2000-8000
Pinhão manso	38	1200-1500
Babaçu	60	120
Mamona	39,6-59,8	470

Amendoim	40-60	788
Girassol	40-47	774
Soja	18-21	560
Colza	34-40	570
Algodão (caroço)	18-20	361

Fonte: BERGMANN (2013)

É crescente o interesse na produção de biodiesel a partir de óleos e gorduras usados, seja no âmbito doméstico, comercial ou industrial. Essa alternativa é particularmente interessante porque a reutilização desse material permite tornar a produção mais competitiva e apresenta uma solução de destino para esses rejeitos (YOUNG et al., 2015). No entanto, o principal problema na utilização de óleos e gorduras residuais consiste no tratamento requerido, sendo necessário recorrer a decantações e neutralizações para redução de impurezas e acidez da matéria-prima (QUELHAS, 2012).

Devido a possíveis problemas relativos ao uso desregrado da agricultura para produção de biodiesel e ao conflito com a produção de alimentos, estuda-se também a utilização de fontes alternativas aos óleos, como as microalgas. Porém, encontra-se alto custo para a geração de biomassa, tornando a técnica pouco empregada atualmente (YOUNG et al., 2015).

### 3.2. Lipases

Enzimas são moléculas proteicas, que atuam como catalisadores biológicos de diversas reações químicas. Dentre as enzimas existentes, destacam-se as hidrolíticas, sendo as lipases (glicerol éster hidrolases, E.C.3.1.1.3), as mais utilizadas. Estas hidrolisam triacilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol (WOLSKY, 2008).

As lipases possuem uma estrutura tridimensional pertencente a um grupo de família denominado  $\alpha/\beta$  hidrolases. Essas estruturas tridimensionais apresentam dois segmentos: o domínio C-terminal e o domínio N-terminal, cujo centro ativo é responsável pela atividade catalítica da molécula (FARIAS, 2014).

O centro ativo dessas enzimas é composto por uma tríade catalítica, sendo geralmente, Serina-Glutamina-Histidina ou Serina-Asparagina-Histidina. Esse centro possui uma camada de proteção em forma de tampa, composta essencialmente por aminoácidos hidrofóbicos, que muda de conformação sob determinadas condições. Na ausência de substrato, a tampa permanece fechada (conformação fechada), impedindo o acesso ao meio. Em presença de substratos hidrofóbicos, a tampa sofre uma mudança conformacional facilitando o acesso ao centro ativo (conformação aberta) e expondo a superfície hidrofóbica da enzima. A essa mudança de conformação, denominamos ativação interfacial, sendo as lipases as únicas enzimas a participarem deste mecanismo de ativação (AKIL, 2016). A Figura 4 representa as conformações aberta e fechada da lipase obtida através da *Yarrowia lipolytica*.

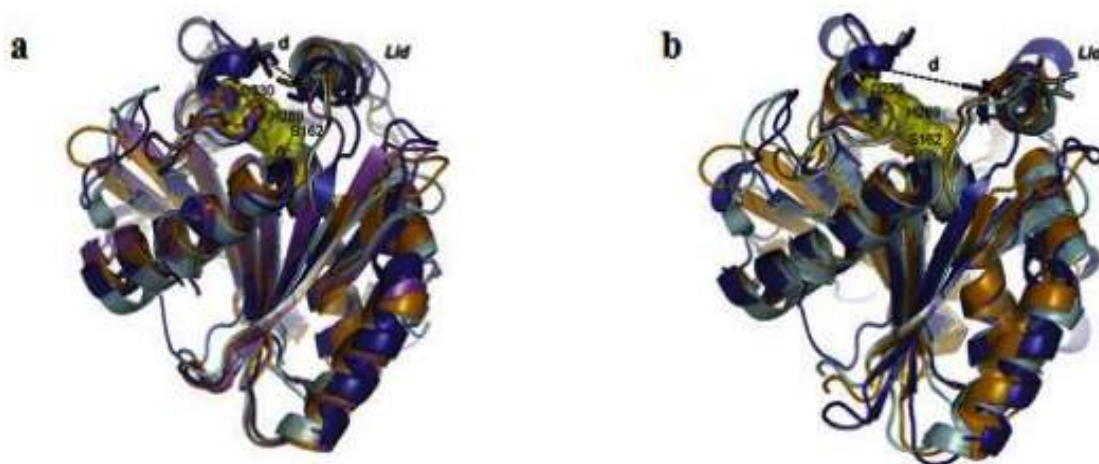


Figura 4: Estrutura tridimensional da lipase obtida através da *Yarrowia lipolytica*. (a) Conformação aberta. (b) Conformação fechada.

Fonte: BORDE et al. (2010).

A cinética das lipases não segue o comportamento cinético de Michaelis-Menten, já que se observa um aumento na atividade da enzima em concentrações do substrato próximas ou acima do limite de solubilidade. Quando os substratos estão presentes em solução na forma de monômeros, a concentração destes encontra-se abaixo da concentração micelar crítica (CMC), desfavorecendo e impedindo a ativação interfacial (BRÍGIDA, 2010). Logo, essas enzimas atuam em



substratos apolares, mas suas atividades catalíticas são mais acentuadas na presença de interfaces lipídeos-água, formando emulsões. A Figura 5 representa as concentrações dos substratos e as respectivas atividades enzimáticas da lipase.

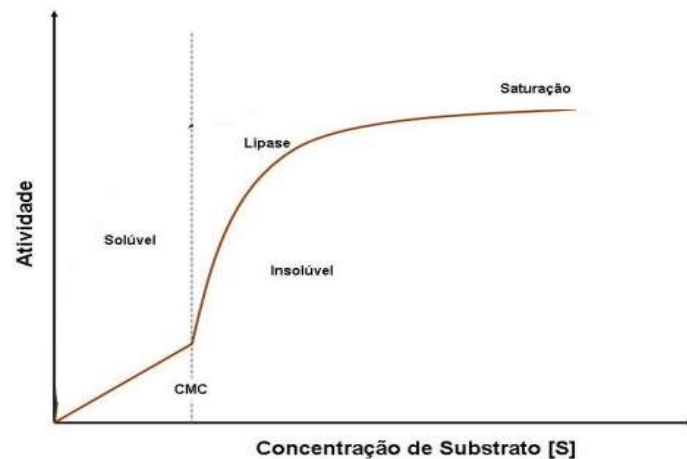


Figura 5: Comportamento cinético.

Fonte: Adaptado de BRÍGIDA (2010)

Além de atuarem em hidrólises de triacilgliceróis, as lipases também podem catalisar sínteses de ésteres, como esterificação e transesterificação, em meios microaquosos (YOUNG, 2015). De acordo com Santos (2017), as lipases podem ser classificadas de diferentes formas em relação à sua especificidade:

- Lipases não específicas: essas enzimas catalisam a hidrólise das moléculas dos acilgliceróis aleatoriamente, não discriminando a posição do grupo acil.  
Exemplos: lipases produzidas por *Candida rugosa*, *Staphylococcus aureus*, *Chromobacterium viscosum* e *Pseudomonas sp.*
- Lipases 1,3 específicas: hidrolisam triacilgliceróis de forma a produzir ácidos graxos nas posições 1 e 3, obtendo produtos de composições distintas das lipases não específicas.

Exemplos: lipases de *Aspergillus niger*, *Mucor javanicus*, *Yarrowia lipolytica* e *Candida lipolytica*.

- Lipases ácido graxos específicas: catalisam a hidrólise de ésteres que possuem ácidos graxos com longa cadeia carbônica insaturada, com ligação dupla cis no carbono 9. Esse tipo de enzima não é comumente encontrada.

Exemplo: *Geotrichum candidum*.

A especificidade das enzimas é uma propriedade importante e representa uma vantagem frente aos catalisadores químicos, já que há menor formação de subprodutos. Assim, a utilização de catalisadores biológicos tem apresentado crescimento ao longo dos anos, sendo amplamente empregadas em diversos setores, especialmente nas indústrias alimentícia, têxtil, detergentes, farmacêuticas e de produção de biodiesel (FARIAS, 2014). É possível observar no Quadro 4 alguns exemplos das principais aplicações de lipases na indústria química.

Quadro 4: Principais aplicações de lipases na indústria química.

Indústria	Aplicação
Laticínios	Hidrólise de gordura do leite
Panificação	Aumento de aroma e da vida de prateleira
Cervejaria	Aceleração da fermentação em função dos lipídios
Carne	Desenvolvimento do aroma e remoção do excesso de gordura
Farmacêutica	Digestão de óleos e gorduras em alimentos
Médica	Determinação de triglicerídeos no sangue
Papel	Tratamento de polpas de celulose
Tratamento de resíduo	Decomposição e remoção de substâncias oleosas

Fonte: MALDONADO (2006).

A *Yarrowia lipolytica* é um micro-organismo pertencente à classe de Ascomicetos, do Reino Fungi. Esta espécie de levedura é caracterizada pela capacidade de degradação de proteínas e lipídeos e de secretar diversos metabólitos em grande quantidade. Dentre os principais produtos desta levedura, destacam-se as lipases, as quais possuem propriedades importantes e de interesse industrial (NUNES, 2015).

Essa levedura apresenta diformismo, ou seja, ocorre alternância natural em suas duas morfologias conforme variações do meio de cultivo, formando pseudo-hifas, hifas septadas e células de leveduras (LIMA, 2014). Isso tem sido estudado como possível fator para o crescimento e reprodução das espécies que apresentam essa característica (NUNES, 2015).

As espécies *Yarrowia lipolytica* podem ser encontradas em produtos lácteos ou em ambientes ricos em lipídeos, tais como esgoto, solo e ambientes contaminados com óleos (SANTOS, 2017).

As lipases produzidas por fungos, como a levedura estudada, são na maioria, enzimas extracelulares. Dessa forma, as condições do meio em que esses fungos se encontram são extremamente importantes para a produção, crescimento e atividade enzimática das lipases, tais como quantidade de carbono disponível, temperatura, pH, nível de oxigênio dissolvido, agitação, fonte de nitrogênio, presença de lipídeos e biosurfactantes (NUNES, 2015).

Dentre os fatores citados acima, a fonte de carbono é a que demonstra ter o papel mais importante na produção das lipases, já que estas são facilmente induzidas por lipídeos, como óleo ou qualquer outro indutor da mesma natureza. No entanto, alguns autores têm apresentado síntese de lipases na ausência de gorduras ou óleos (FARIAS, 2014).

### **3.3. Produção de biodiesel**

Como dito anteriormente, o biodiesel é produzido através da reação de esterificação de óleos e gorduras com um álcool. Para isso, diversas rotas podem ser utilizadas dependendo do catalisador empregado. Neste capítulo, trataremos de algumas das rotas utilizadas.

#### **3.3.1. Transesterificação alcalina homogênea**

A transesterificação via catálise alcalina homogênea é a rota mais utilizada industrialmente. Essa preferência se deve ao menor tempo de reação requerido, menor temperatura do meio reacional e menores razões molares entre o óleo e o álcool (YOUNG, 2015). Além disso, o meio alcalino é menos corrosivo que o meio ácido, de modo que os equipamentos e tubulações podem ser construídos com aço-carbono desde que a concentração do catalisador básico, seja menor que 50% em massa, para temperaturas entre a temperatura ambiente e 90°C (DAVIS, 2000).

Diversos catalisadores são utilizados, tais como hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, metóxido de sódio e metóxido de potássio, sendo mais empregados o hidróxido de sódio e o hidróxido de potássio, devido ao baixo custo e por formar compostos muito reativos com o metanol ou etanol (ROTTIG et al, 2010). Um dos maiores problemas enfrentados por essa rota é o elevado risco de saponificação, ou seja, formação de sabão através da reação entre o catalisador básico e os ácidos graxos livres, promovida pela presença de água. A fim de eliminar completamente o risco de saponificação, a concentração dos ácidos graxos na entrada do reator ser inferior a 0,5% em massa e o conteúdo de água deve ser inferior a 0,05% (SESHU et al, 2008).

Além da perda de eficiência devido à formação de subprodutos indesejados, a catálise alcalina apresenta outras desvantagens, como: a separação, que geralmente é dificultada por conta da formação de emulsões e a grande quantidade de resíduos líquidos gerados, causando grande impacto ambiental.

Portanto, é necessário que os óleos passem por uma etapa de pré-tratamento a fim de diminuir a acidez e umidade, antes de seguir para a etapa de transesterificação (YOUNG, 2015).

### **3.3.2. Transesterificação ácida homogênea**

A tecnologia embasada na catálise ácida homogênea não é um processo muito utilizado, visto que essa reação é muito mais lenta que a transesterificação alcalina. Entretanto, a catálise ácida não é afetada pela presença de ácidos graxos livres na matéria-prima, já que os catalisadores ácidos podem catalisar as reações de esterificação e transesterificação simultaneamente. Sendo assim, uma grande vantagem do uso do catalisador ácido é que ele é capaz produzir biodiesel a partir de um reagente lipídico de baixo custo, que contém altas concentrações de ácidos graxos livres (VYAS et al, 2010).

### **3.3.3. Transesterificação via catálise heterogênea**

A transesterificação via catálise heterogênea é uma alternativa interessante para a produção de biodiesel, visto que os catalisadores heterogêneos conseguem ser facilmente removidos da mistura reacional (VYAS et al, 2010). Os catalisadores podem ser ácidos ou alcalinos. Eles são capazes de catalisar as reações de transesterificação de óleos vegetais, óleos de fritura, gorduras animais, e de outras matérias primas com elevado teor de ácidos graxos livres. Portanto, a síntese via catálise heterogênea poderia ser conduzida a baixos custos de produção, já que é possível a separação e posterior reutilização do catalisador e transesterificação simultânea (MARTINS et al, 2008). Entretanto, o maior desafio para esse processo é tornar o custo de construção da planta baixo, já que as temperaturas podem variar na faixa de 220°C a 240°C e as pressões na faixa 40 a 60 bar (SERIO et al, 2008).

### 3.3.4. Produção em meio supercrítico

O uso de condições supercríticas é uma alternativa em que tem ganho bastante atenção atualmente. Nesse processo, a transesterificação pode ser realizada sem a presença de catalisadores, reduzindo custos com separação, porém, altas pressões e temperaturas são utilizadas. A ideia é fazer com que a mistura se torne homogênea, aumentando a transferência de massa entre os reagentes. É um processo com elevada velocidade de reação. Estima-se que poucos minutos sejam suficientes para converter todo o triglicerídeo em uma única batelada. Outra vantagem para esse processo é que elevados teores de álcool e de água podem ser tolerados. No entanto, o uso de elevadas temperatura e pressão são os principais motivos pelos quais a indústria ainda não se interessa por esse processo (KUSDIANA e SAKA, 2004; QUELHAS, 2012).

### 3.3.5. Rota enzimática

Outra tecnologia de produção de biodiesel que vem ganhando bastante atenção nos últimos anos, é a catálise enzimática. A catálise enzimática, também permite teores mais elevados de ácidos graxos livres e umidade presentes na matéria-prima. A sua principal vantagem com relação às outras rotas é o uso de condições mais brandas de reação. No entanto, o tempo de reação pode variar, mas a princípio é bastante elevado. Além disso, o preço das enzimas ainda é muito alto, o que dificulta a sua implementação a nível industrial (LEE, LIÃO e SHIELD, 2003). A comercialização de biodiesel obtido via tecnológica enzimática tornou-se realidade a partir de 2014, com duas plantas, pertencentes a empresa Blue Sun Energy e Viesel Fuel LLC, que entraram em operação nos Estados Unidos (YOUNG, 2015). De acordo com essas empresas, a rota enzimática pode apresentar um tempo de retorno do investimento de aproximadamente três anos (MAGALHÃES, 2014).

Rathore e Madras (2007) estudaram a síntese de biodiesel a partir de óleos comestíveis (amendoim e dendê) e de óleos não comestíveis (*Jatropha curcas* e *Pongamia*). Etanol e metanol foram testados e foi utilizado a enzima comercial

Novozym 435 como catalisador na presença de CO<sub>2</sub> supercrítico. A temperatura de reação foi variada de 30 a 60°C, observando que o máximo de conversão ocorreu em 45°C, para ambos os álcoois. A razão molar óleo:álcool foi variada entre 1:1 e 1:6. Tanto para o metanol quanto para o etanol foi obtido o valor máximo de conversão foi encontrado com razões molares na ordem de 5:1. A concentração da enzima também foi variada, entre 10 e 70% em relação ao peso do óleo. A partir de 30% de enzimas, não houve nenhuma mudança significativa na conversão. A fim de analisar a cinética da reação, esta foi conduzida nas condições ótimas por um período de 24h. Para o óleo de dendê e o etanol, foi obtida uma conversão de 75% após 16h de reação. As conversões obtidas com o metanol foram menores, fato que foi atribuído ao seu maior poder de inibição. Comparando as conversões obtidas neste estudo com trabalhos anteriores, os autores observaram que a condução da reação com o uso de CO<sub>2</sub> supercrítico poderia ter sido a causa dos piores resultados.

Cerveró et al. (2014) estudaram a transesterificação do óleo de soja com etanol na presença do biocatalisador Novozym 435. As reações foram realizadas em meio isento de umidade, visando os possíveis efeitos negativos causados pela presença de água. As condições ótimas de reação determinadas foram: razão mássica enzima óleo de 1:20, temperatura de 37°C e razão molar óleo:álcool de 1:3. A adição gradativa do álcool também foi estudada, em duas ou três bateladas, mostrando um efeito positivo (CERVERÓ, ÁLVAREZ e LUQUE, 2014).

Ao adicionar o álcool em etapas, é possível evitar seu efeito desnaturante sobre a enzima em questão e garantir altos rendimentos, devido ao excesso de reagentes (MIRANDA e MOURA, 2016). Watanabe et al. (2000) observaram que a lipase Novozym 435 era inativada quando o excesso de álcool em relação ao óleo era superior a 3:1, ao estudar a metanólise do óleo de soja. Foi visto que a adição do álcool em três etapas (0, 5 e 10h) promovia um aumento na conversão em relação à reação com adição única do metanol no início do processo. Posteriormente, Martín e Otero (2008) encontraram resultados similares ao estudar a adição gradativa do etanol (0, 4 e 6h) na produção de biodiesel a partir do óleo de soja, onde um aumento de 10% foi encontrado na conversão em relação à adição única do álcool.

A produção de biodiesel via rota enzimática também pode ser realizada com o uso de solventes. Estes são utilizados com o objetivo de aumentar a taxa de transesterificação, já que são capazes de solubilizar, simultaneamente, os triacilglicerídeos hidrofóbicos e álcoois hidrofílicos, além de diminuir a viscosidade do meio reacional, facilitando a transferência de massa (FJERBAEK et al., 2009).

De modo geral, solventes orgânicos hidrofóbicos são mais utilizados, já que os solventes hidrofílicos tendem a retirar água essencial da estrutura proteica da enzima, levando à uma perda de atividade. Dentre os solventes mais utilizados estão o n-hexano, n-heptano, iso-octano, ciclohexano, éter de petróleo, e terc-butanol (ROYON et al, 2007).

O Quadro 5 compara o rendimento obtido na produção de biodiesel via rota enzimática através de diferentes condições de processo.

Quadro 5: Rendimento obtido na produção de biodiesel via rota enzimática através de diferentes condições de processo.

Álcool	Lipase	Óleo	Solvente	Rendimento
Metanol	<i>C. antarctica</i>	Algodão	-	92%
Metanol	<i>C. antarctica</i>	Algodão	t-butanol	97%
Metanol	<i>C. antarctica</i>	Soja degomada	-	94%
Metanol	<i>T. lanuginosus</i>	Soja	-	90%
Etanol	<i>P. cepacia</i>	Sebo	-	95%
Metanol	<i>P. cepacia</i>	Palmiste	-	15%
Etanol	<i>P. cepacia</i>	Palmiste	-	72%
Metanol	<i>M. miehei</i>	Soja	Hexano	75%
Etanol	<i>M. miehei</i>	Soja	Hexano	97%
Metanol	<i>M. miehei</i>	Soja	Hexano	95%
Etanol (96%)	<i>M. miehei</i>	Sebo	Hexano	98%
Etanol Anidro	<i>M. miehei</i>	Sebo	Hexano	68%
Propanol	<i>M. miehei</i>	Sebo	Hexano	24%
Butanol	<i>M. miehei</i>	Sebo	Hexano	20%
Propanol	<i>C. antarctica</i>	Sebo	Hexano	61%
Butanol	<i>C. antarctica</i>	Sebo	Hexano	84%

Fonte: GOG et al. (2012); RIBEIRO et al. (2011)



O Quadro 6 resume uma breve comparação mostrando vantagens e desvantagens das principais rotas de produção de biodiesel (YOUNG, 2015).

Quadro 6: Comparação entre as principais rotas de produção do biodiesel.

Variáveis	Catálise Alcalina	Catálise Ácida	Catálise Enzimática
Temperatura	Baixa (60-80°C)	Alta	Baixa (20-50°C)
Teor de água	Ausência de água	Baixo	Baixo
Rendimento	Alto (>96%)	Baixo	Alto (~90%)
Conversão de AGL	Ésteres e sabão	Ésteres	Ésteres
Separação do produto	Lavagem aquosa	Lavagem aquosa	Filtração
Teor de AGL	Baixo	Qualquer teor	Qualquer teor
Impacto ambiental	Médio	Médio	Baixo
Tempo de reação	Rápido	Lento	Lento
Custo do catalisador	Baixo	Baixo	Alto
Formação de sabão	Sim	Não	Não

Fonte: YOUNG (2015).

## 4. MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1. Materiais

Neste trabalho foram utilizados três diferentes tipos de óleos, sendo o óleo de soja refinado e o óleo de soja usado para fritura da marca Liza e o óleo de buriti bruto da marca Fênix.

Além disso, foram utilizados álcool etílico PA fabricado pela ISOFAR, hidróxido de sódio fabricado pela VETEC e sulfato de sódio anidro fabricado pela ISOFAR.

A lipase proveniente do *Penicillium Camemberti*, foi obtida da VETEC e a lipase proveniente da *Yarrowia Lipolytica* foi produzida em nosso próprio laboratório.

Os reagentes utilizados na fase móvel foram: metanol e uma mistura de *i*-propanol e *n*-hexano, ambos da marca TEDIA.

### 4.2. Equipamentos

- Ultra Turrax IKA T-25 digital;
- Titulador automático;
- Balança;
- Placa de Aquecimento da marca IKA, modelo C-MAG HS 7;
- Liofilizador Terroni, modelo Enterprise I;
- Shaker Tecnal;
- Centrífuga de marca IKA, modelo mini G;
- Equipamento de HPLC Dionex, modelo UltiMate 3000.

### 4.3. Metodologia

Para a produção do biodiesel foram utilizados três óleos distintos: óleo de soja refinado, óleo de fritura usado e óleo de buriti bruto. Antes das reações, realizou-se a determinação do índice de acidez dos óleos empregados.

#### 4.3.1. Determinação do índice de acidez dos óleos

Em um tubo Falcon, adicionou-se 25ml de álcool etílico PA e 14g da amostra de óleo. A mistura foi levada para um Ultra Turrax IKA T-25 digital durante 3 minutos a fim de promover a formação de uma emulsão. Por fim, procedeu-se a titulação com NaOH previamente padronizado em titulador automático. O volume de NaOH utilizado é convertido no índice de acidez, expresso em mg de KOH/g de amostra, de acordo com a Equação 1. Os experimentos foram feitos em triplicata para cada óleo.

$$\text{Índice de acidez} = \frac{V_{\text{NaOH}} * M_{\text{NaOH}} * MM_{\text{ácido graxo em maior \%}}}{10 * \text{massa da amostra}} \quad (1)$$

#### 4.3.2. Produção de biodiesel

O biodiesel foi produzido através da reação de transesterificação de três diferentes óleos: óleo de soja refinado, óleo de fritura usado e óleo bruto de buriti; com álcool etílico. Para isso, utilizou-se a rota química, via catálise alcalina homogênea e a rota enzimática, com o uso da enzima lipase obtida de *Yarrowia lipolytica*. Essa enzima foi obtida no próprio laboratório através de fermentação submersa por outros participantes do grupo de pesquisa. Metodologia de produção dessa lipase encontra-se descrita em (SANTOS, 2017).

A nível de comparação do potencial da enzima produzida por nosso grupo de pesquisa, realizou-se também a síntese enzimática de biodiesel utilizando uma enzima comercial obtida pelo *Penicillium camemberti*, da marca VETEC.

#### 4.3.2.1. Produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea

Pesou-se, em um balão volumétrico de 500mL de fundo chato, 30g da amostra de óleo. A mesma foi aquecida e agitada, utilizando-se placa da marca IKA, modelo C-MAG HS 7, até 80°C. Separadamente, em um bécher, uma solução de aproximadamente 0,295g de NaOH dissolvidos em 38mL de álcool etílico 95% foi preparada. Após total solubilização da mesma, a solução foi adicionada, lentamente, ao balão volumétrico já aquecido. O meio reacional teve sua temperatura controlada entre 80°C e 85°C sob refluxo e agitação por duas horas. A Figura 6 ilustra o aparato utilizado.



Figura 6: Produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea.

Dado o tempo de reação, a mistura foi esfriada até temperatura ambiente e vertida em funil de separação. A separação durou em torno de 24h e foram obtidas duas fases: a inferior contendo glicerol e a superior contendo o biodiesel desejado.

Em seguida, retirou-se do funil a fase inferior (glicerol) e, para que houvesse a secagem do produto obtido, adicionou-se sulfato de sódio anidro ao biodiesel que posteriormente foi submetido a filtração com papel de filtro. A etapa é ilustrada pela Figura 7.



Figura 7: Secagem e filtração do biodiesel produzido.

Por fim, mediu-se o volume do produto obtido e o mesmo foi armazenado em freezer para posterior caracterização.

#### **4.3.2.2. Produção de biodiesel via rota enzimática**

Para a produção de biodiesel via rota enzimática foram utilizadas duas diferentes lipases: uma obtida em nosso laboratório através da fermentação submersa de *Yarrowia lipolytica*, de atividade específica 65.000 U/L, e outra comercial obtida pelo *Penicillium camemberti*, de atividade específica 50.000 U/L. Antes que a enzima produzida por *Yarrowia lipolytica* pudesse ser utilizada nos experimentos, foi necessário que ela fosse liofilizada por 48 horas no liofilizador de marca Terroni, modelo Enterprise I. A etapa da liofilização está ilustrada na Figura 8.



Figura 8: Liofilização da enzima produzida por *Yarrowia lipolytica*.

Para síntese enzimática de biodiesel, em um tubo Falcon foi adicionado 10g de óleo, 13ml de álcool etílico e 1g de enzima liofilizada. O tubo foi, então, colocado em um shaker da marca Tecnal à 37°C e agitação de 190rpm. Amostras do meio reacional foram coletadas no tempo zero, 24h, e 72h para posterior caracterização.

O procedimento foi idêntico para as duas enzimas utilizadas no presente trabalho e é ilustrado pela Figura 9.



Figura 9: Produção de biodiesel via rota enzimática.

#### 4.3.3. Caracterização dos óleos utilizados e do biodiesel produzido

As amostras foram centrifugadas por 5 min e rotação 6000 rpm na centrífuga de marca IKA, modelo mini G. A etapa de centrifugação está ilustrada na Figura 10.



Figura 10: Etapa de Centrifugação.

Finalizada a etapa de centrifugação, com o auxílio de pequenas seringas, foram retiradas alíquotas das amostras de cada eppendorf de forma a coletar somente a fase oleosa de cada amostra. As alíquotas foram filtradas com filtros acoplados a seringas e realizou-se a diluição necessária para a análise por CLAE.

As análises por CLAE foram realizadas em coluna Varian Microsorb-MV (Lake Forest, California, EUA) de 250 mm de comprimento por 4,6 mm de diâmetro interno, com fase octadecilsilano de 5 µm de tamanho de partícula com 100 Å de diâmetro de poro. Uma pré-coluna de 2 cm de comprimento, com fase octadecilsilano (Supelco, Bellefonte, EUA), foi adaptada entre o injetor e a coluna de separação. A fase móvel foi composta de metanol (A) e uma mistura de i-propanol/n-hexano (5:4, v/v) (B). As fases foram filtradas em membrana politetrafluoretileno (PTFE) da Millipore (Bedford, EUA) com 0,5 µm de poro e sonicadas por 20 min antes do uso. As análises foram realizadas à temperatura ambiente com vazão de 1 mL/min e detecção UV a 205 nm. Foi empregado um equipamento da Varian (Walnut Creek, California, EUA), modelo Polaris, composto de duas bombas, um detector por varredura de espectro ao ultravioleta modelo 325 Varian e um injetor Rheodyne 7725i com alça de amostragem (ingl., "loop") de 20 µL. Um gradiente binário com duas rampas lineares foi empregado: 0% a 50% B de 0 a 15 min, seguido de 50% a 100% B até 25 min de corrida, e então por eluição isocrática com 100% B por mais 5 min. O tempo de corrida total foi de 30 min. Todas as amostras foram previamente filtradas em filtro tipo membrana PTFE da Millipore (Bedford, EUA) com 0,45 µm de poro 49 antes da injeção. As amostras foram aplicadas à temperatura ambiente em injetor Rheodyne (20 µL), após diluição na proporção de 3% (p/v) em i-propanol/n-hexano (5:4, v/v). Cada amostra (10 µL) foi analisada em triplicata. Os cromatogramas foram analisados e integrados pelo programa de aquisição do Sistema Galaxie, versão 1.9.3.2 (Varian, Califórnia, EUA) (ANDRADE, 2011). A Figura 11 apresenta o equipamento utilizado para as análises.





Figura 11: Equipamento de Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), da marca Dionex, modelo UltiMate 3000.

Após o tempo de quarenta minutos de análise, os respectivos cromatogramas foram analisados segundo Andrade (2011), e divididos em quatro áreas, de acordo com os componentes nelas representadas, sendo elas:

- Tempo de retenção de zero a cinco minutos: monoacilgliceróis (MAG);
- Tempo de retenção de cinco a dez minutos: ésteres etílicos de ácidos graxos (EsMAG);
- Tempo de retenção de dez a vinte minutos: diacilgliceróis (DAG);
- Tempo de retenção de vinte a quarenta minutos: triacilgliceróis (TAG).

O percentual de ésteres de cada óleo e de cada biodiesel produzido foi calculado pela seguinte fórmula:

$$\% \text{ Ésteres} = 100 \times \left( \frac{A_{\text{EsMAG}}}{A_{\text{EsMag}} + A_{\text{MAG}} + (2 \times A_{\text{DAG}}) + (3 \times A_{\text{TAG}})} \right) \quad (2)$$

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. Acidez dos óleos

A Tabela 1 indica os índices de acidez encontrados para óleos utilizados na produção de biodiesel.

Tabela 1: Índices de acidez dos óleos utilizados na produção de biodiesel.

Óleos	Acidez (%)
Fritura	35,14
Soja	6,13
Buriti	8,64

Conforme indicado na tabela, o óleo de fritura apresentou maior índice de acidez (35,14%) entre os estudados e o óleo de soja apresentou o menor índice de acidez (6,13%) entre os estudados.

## 5.2. Caracterização dos óleos utilizados e do biodiesel produzido

### 5.2.1. Óleos utilizados

As Figuras 12, 13 e 14 representam os cromatogramas obtidos para os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

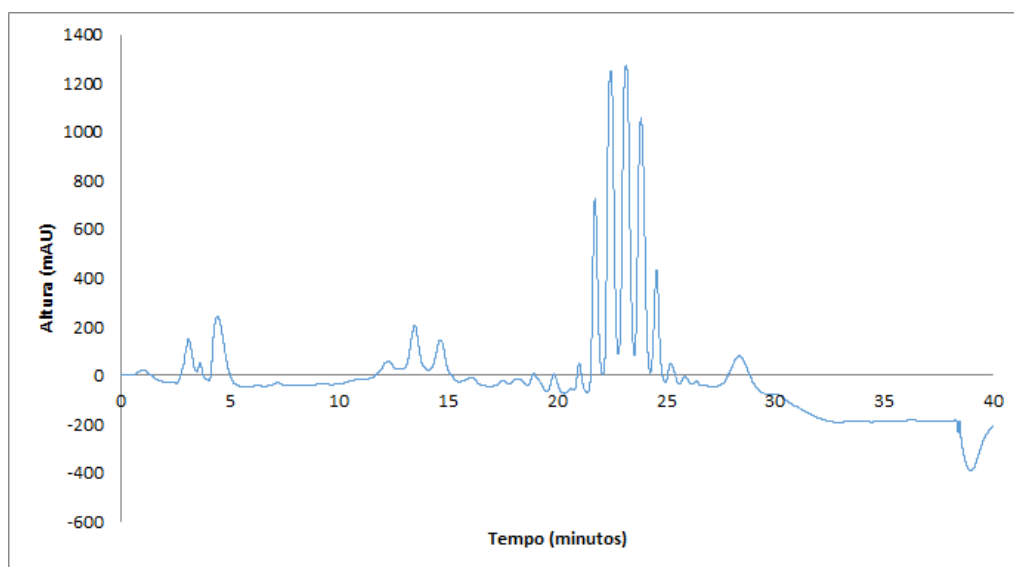


Figura 12: Cromatograma para o óleo de fritura.

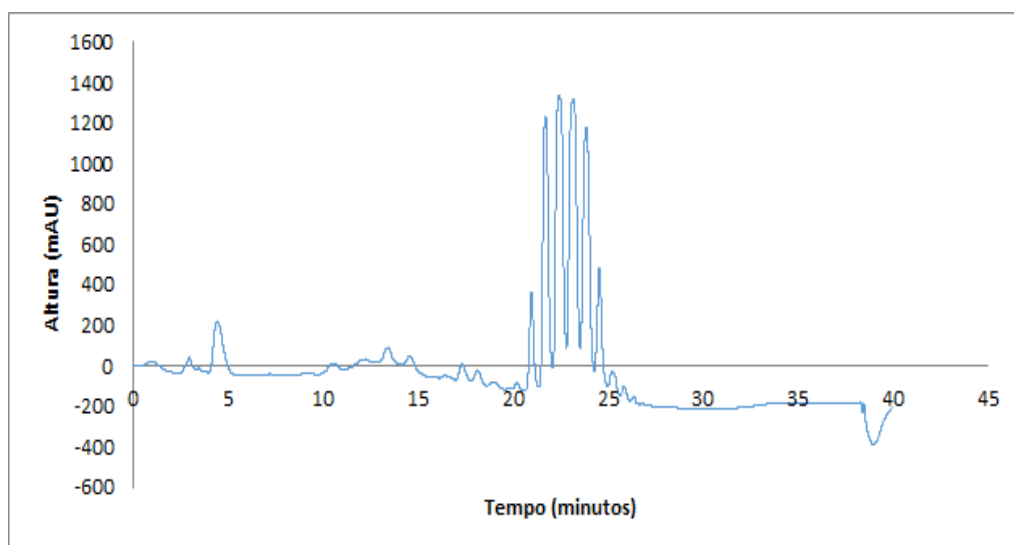


Figura 13: Cromatograma para o óleo de soja.

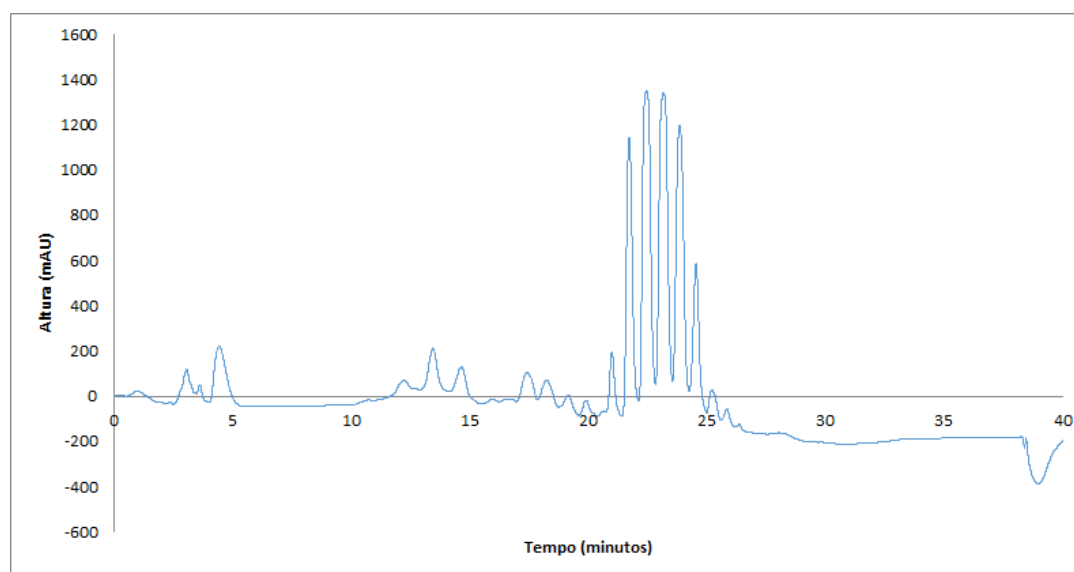


Figura 14: Cromatograma para o óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada óleo e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 3.

Tabela 2: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada óleo e o respectivo percentual de ésteres

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	304,37	7,53	525,88	2164,99	0
Soja	219,75	15,37	430,33	2799,18	0
Buriti	267,93	0,622	338,92	2456,16	0

Conforme verificado, todos os óleos utilizados possuíam alto índice de triacilgliceróis e percentual relativamente baixo de outros compostos.

## 5.2.2. Via catálise alcalina homogênea

A Tabela 2 indica o volume de biodiesel gerado para cada um dos três óleos utilizados na sua síntese.

Tabela 3: Volume de biodiesel gerado para cada óleo utilizado.

Óleos	Volume (mL)
Fritura	25
Soja	26
Buriti	21,5

As Figuras 15, 16 e 17 representam os cromatogramas obtidos para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

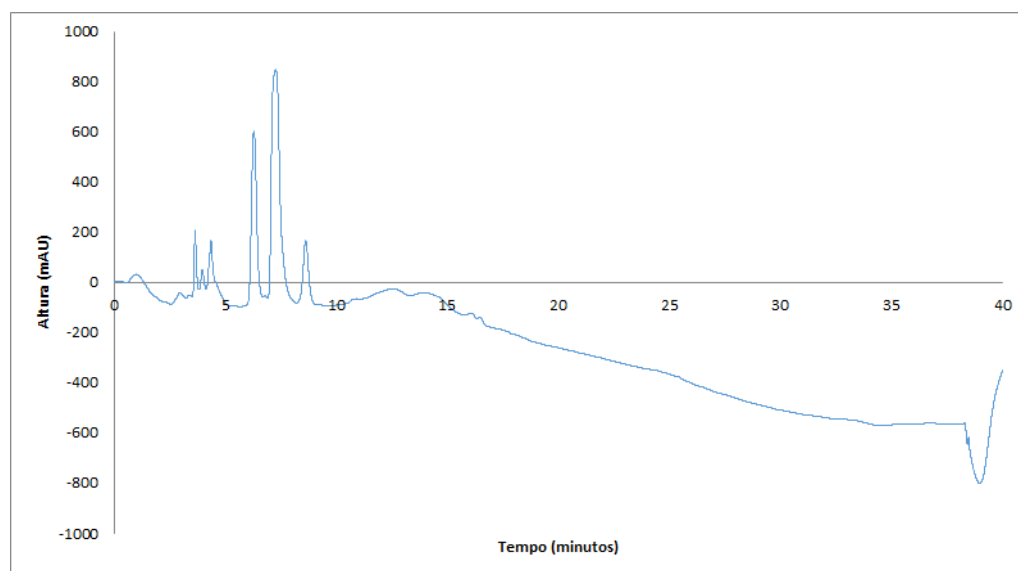


Figura 15: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de fritura.

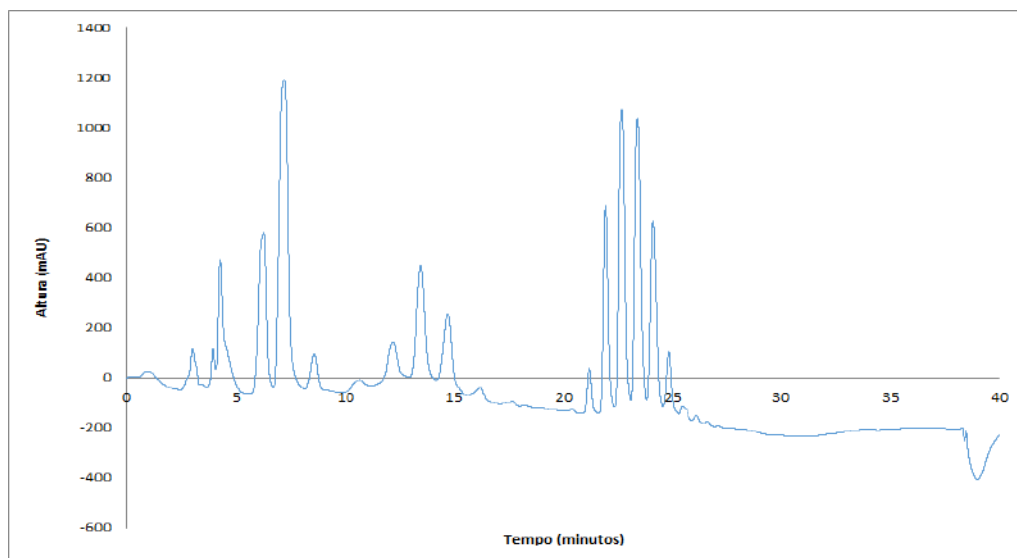


Figura 16: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de soja.

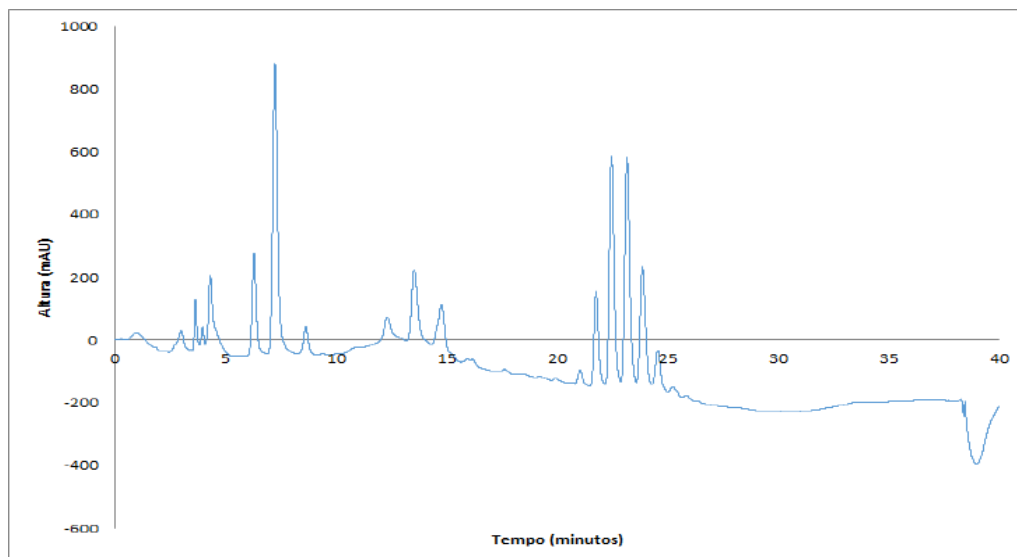


Figura 17: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via catálise alcalina homogênea utilizando óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via catálise alcalina ácida, a partir de cada um dos óleos utilizados, e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via catálise alcalina ácida e o respectivo percentual de ésteres.

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	232,36	698,63	305,65	34,19	42,47
Soja	330,91	950,30	692,18	1495,10	13,29
Buriti	170,22	362,70	424,69	676,87	10,63

Conforme verificado, o biodiesel produzido a partir do óleo de fritura apresentou o maior percentual de ésteres (42,47%). Observa-se, também, que a área correspondente aos triacilgliceróis foi menor para o biodiesel produzido a partir desse óleo (34,19 mAU\*min), confirmando a maior conversão para esse óleo.

O biodiesel produzido a partir do óleo de buriti apresentou o menor percentual de ésteres (10,63%) e a menor área correspondente aos triacilgliceróis (676,87 mAU\*min), representando a menor conversão entre os casos estudados.

### 5.2.3. Via rota enzimática utilizando enzima comercial

#### 5.2.3.1. Após 24 horas de síntese

As Figuras 18, 19 e 20 representam os cromatogramas obtidos para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

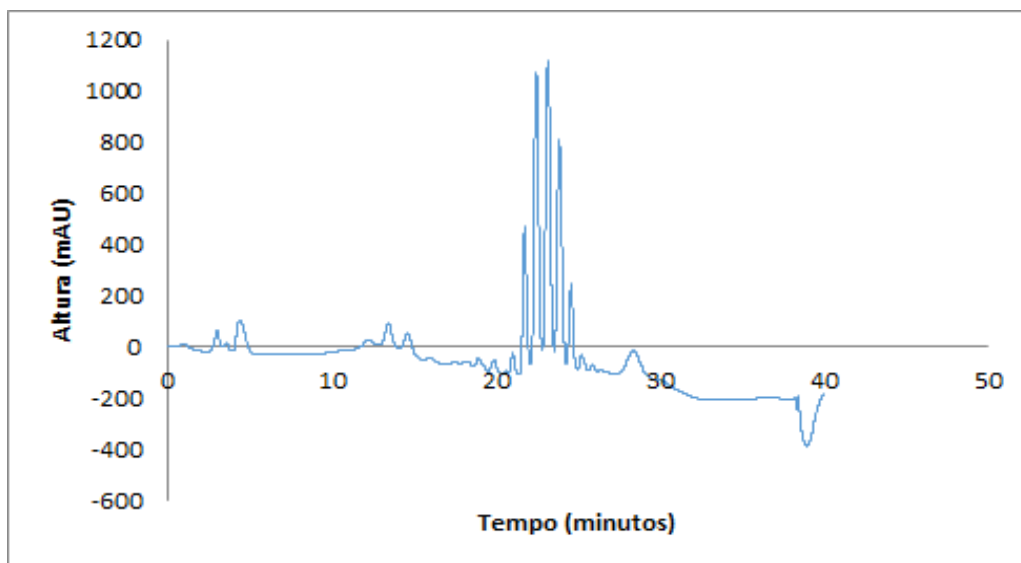


Figura 18: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de fritura.

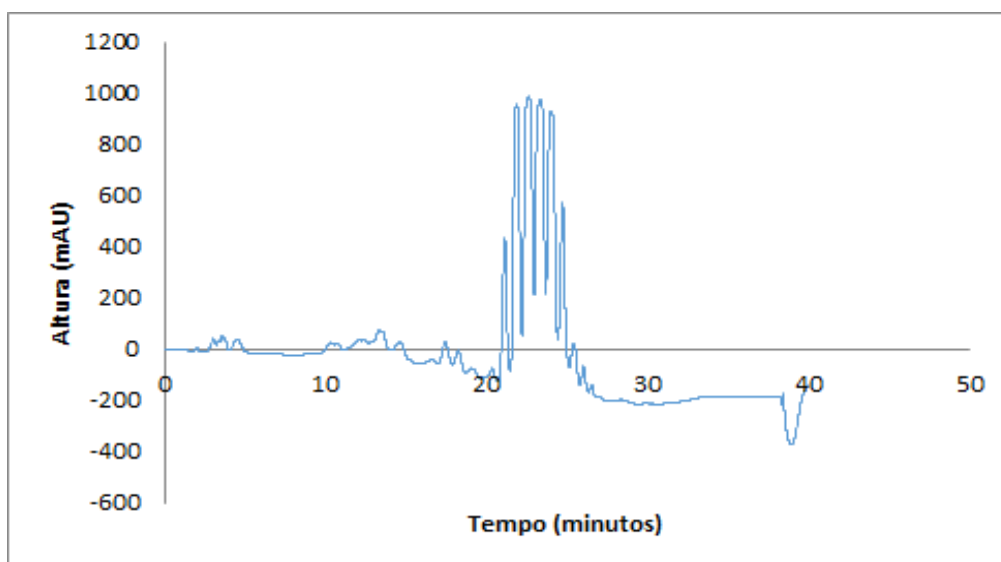


Figura 19: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de soja.



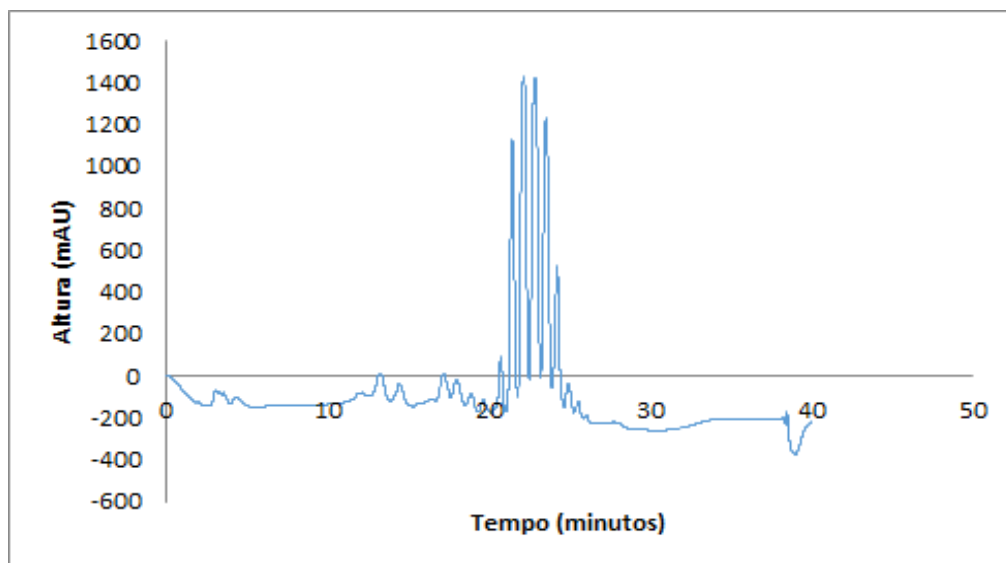


Figura 20: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 24 horas utilizando óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada uma das amostras, produzidas via rota enzimática com enzima comercial para o período de 24 horas, a partir de cada um dos óleos utilizados, e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 5.

Tabela 5: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima comercial para o período de 24 horas e o respectivo percentual de ésteres.

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	108,17	1,35	299,88	1644,40	0
Soja	70,63	1,87	372,16	2875,06	0
Buriti	88,37	0,68	526,08	2603,45	0

Conforme verificado, todos os produtos analisados, produzidos via rota enzimática com enzima comercial após 24 horas, utilizando os diferentes óleos possuíam alto índice de triacilgliceróis e percentual desprezível de ésteres, indicando que não houve conversão.

### 5.2.3.2. Após o período de 72 horas de síntese

As Figuras 21, 22 e 23 representam os cromatogramas obtidos para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial para o período de 72 horas utilizando os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

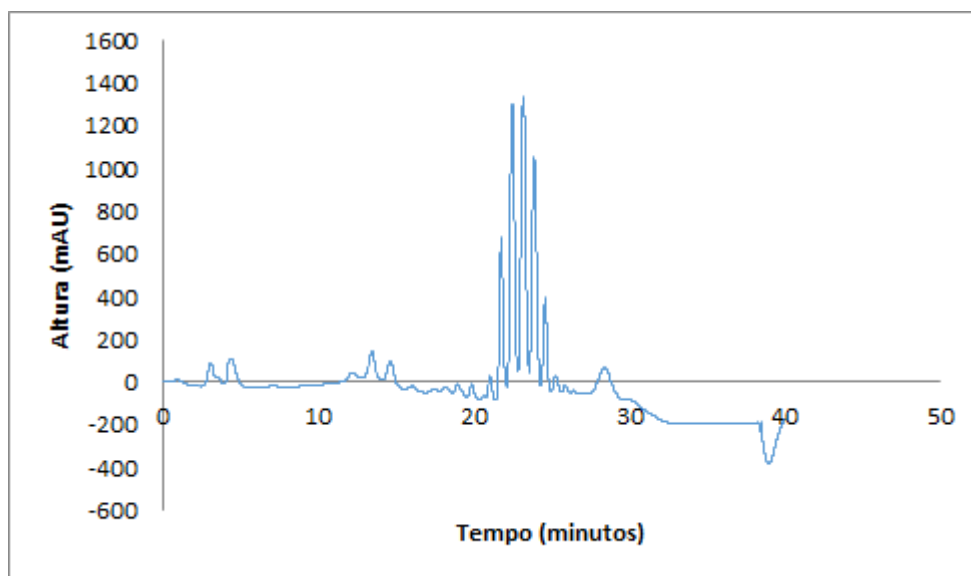


Figura 21: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de fritura.

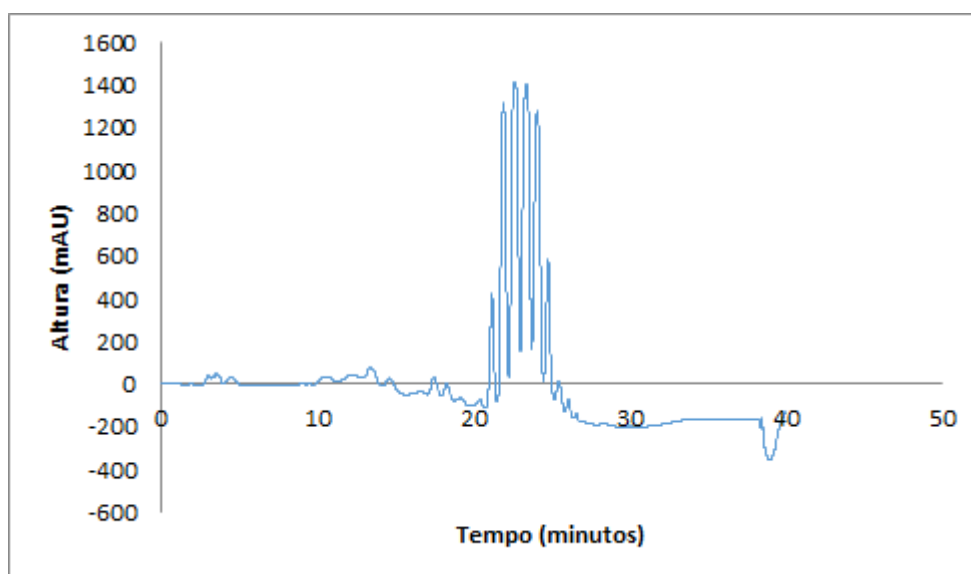


Figura 22: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de soja.

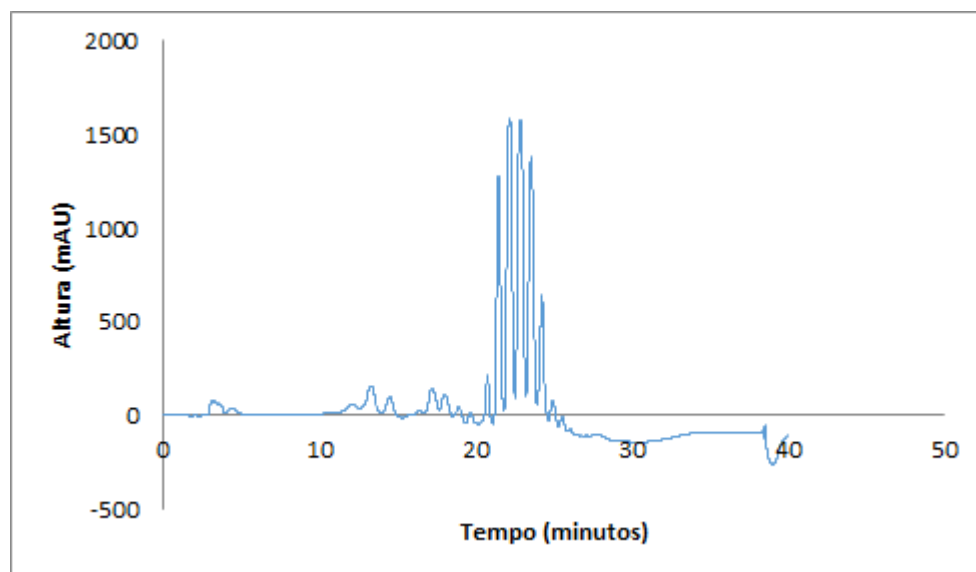


Figura 23: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas utilizando óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada uma das amostras, produzidas via rota enzimática com enzima comercial após o período de 72 horas, a partir de cada um dos óleos utilizados, e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 6.

Tabela 6: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima comercial para o período de 72 horas e o respectivo percentual de ésteres.

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	159,00	2,439	353,22	2073,50	0
Soja	56,41	21,40	397,60	3263,33	0
Buriti	56,47	3,50	538,60	3406,96	0

Conforme verificado, todos os produtos analisados, produzidos via rota enzimática com enzima comercial após 72 horas, utilizando os diferentes óleos possuíam alto índice de triacilgliceróis e percentual desprezível de ésteres, indicando que não houve conversão.

## 5.2.4. Via rota enzimática utilizando a lipase de *Yarrowia lipolytica*

### 5.2.4.1. Após o período de 24 horas de síntese

As Figuras 24, 25 e 26 representam os cromatogramas obtidos para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas utilizando os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

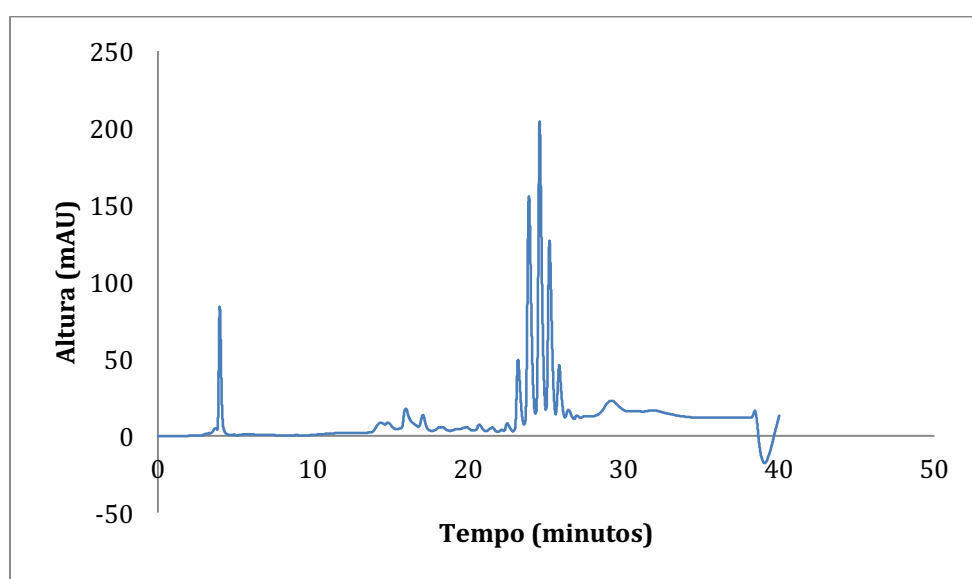


Figura 24: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas utilizando óleo de fritura.

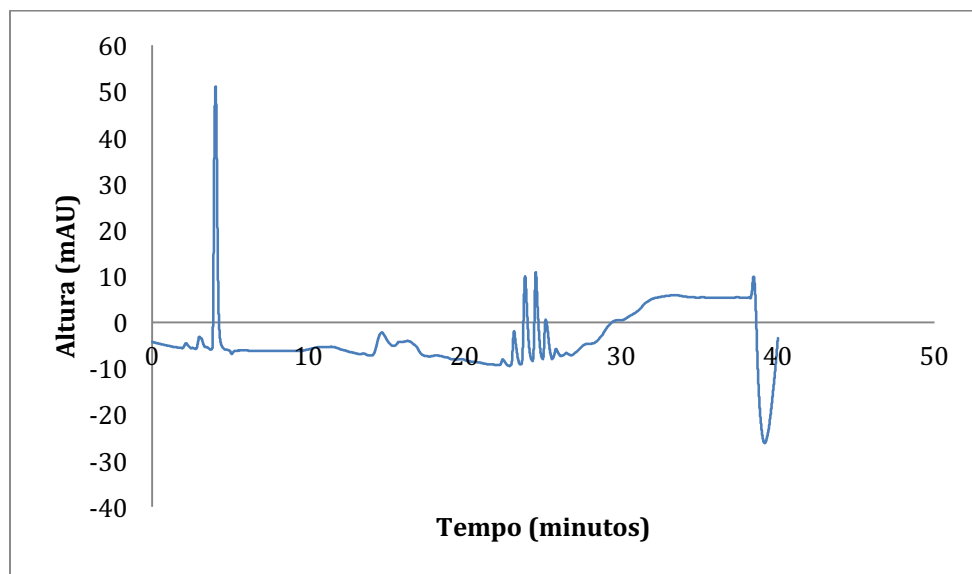


Figura 25: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas utilizando óleo de soja.

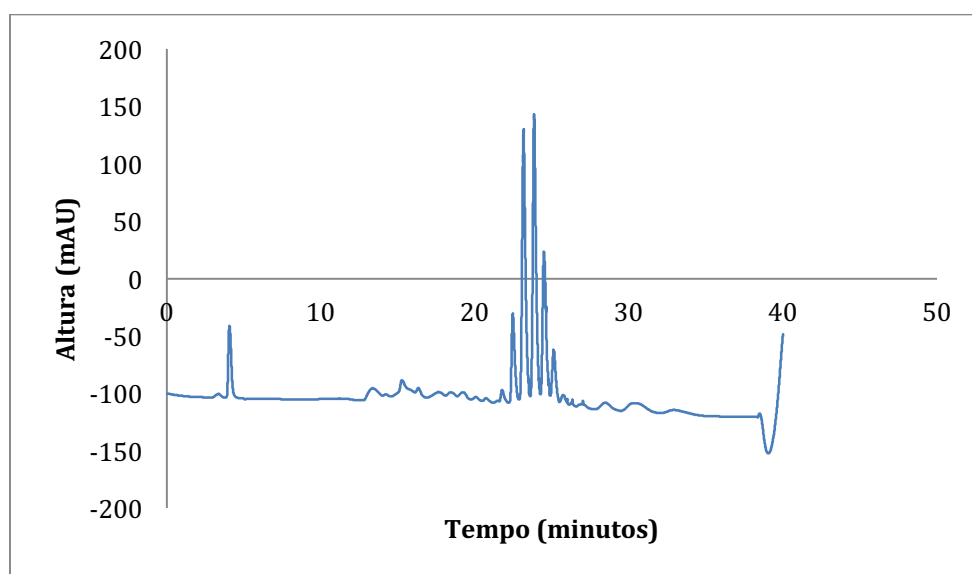


Figura 26: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas utilizando óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada uma das amostras, produzidas via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas, a partir de cada um dos óleos utilizados, e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 7.

Tabela 7: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 24 horas e o respectivo percentual de ésteres.

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	13,59	0	11,08	273,73	0
Soja	14,38	0	2,69	242,48	0
Buriti	15,59	0	20,18	292,55	0

Conforme verificado, todos os produtos analisados, produzidos via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após 24 horas, utilizando os diferentes óleos possuíam percentual desprezível de ésteres, indicando que não houve conversão.

#### 5.2.4.2. Após o período de 72 horas de síntese

As Figuras 27, 28 e 29 representam os cromatogramas obtidos para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 72 horas utilizando os óleos de fritura, soja e buriti, respectivamente.

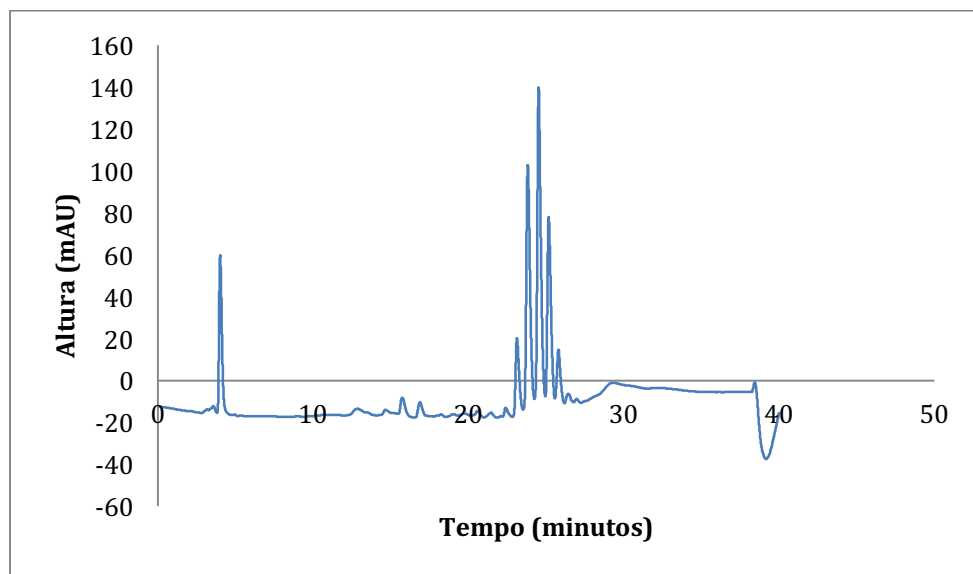


Figura 27: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 72 horas utilizando óleo de fritura.

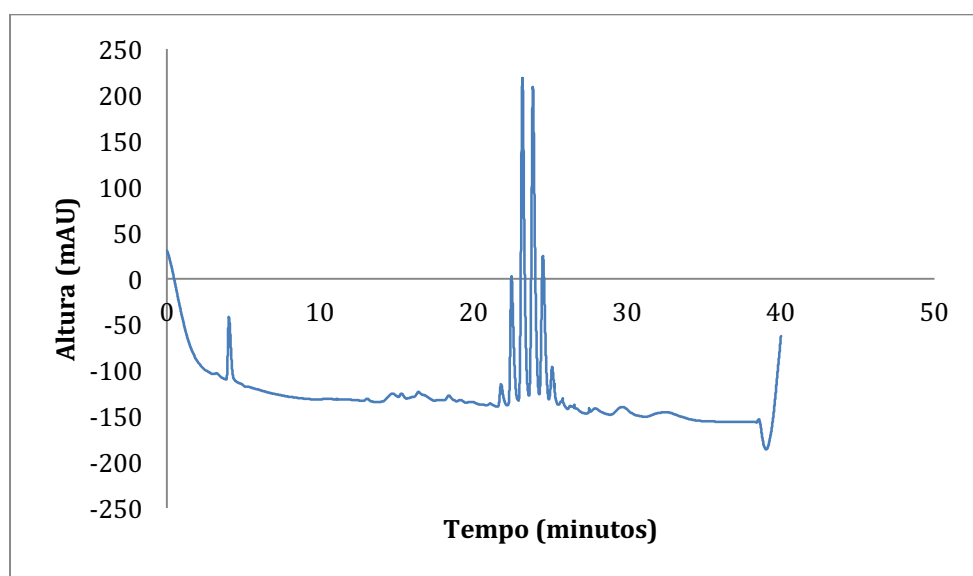


Figura 28: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 72 horas utilizando óleo de soja.

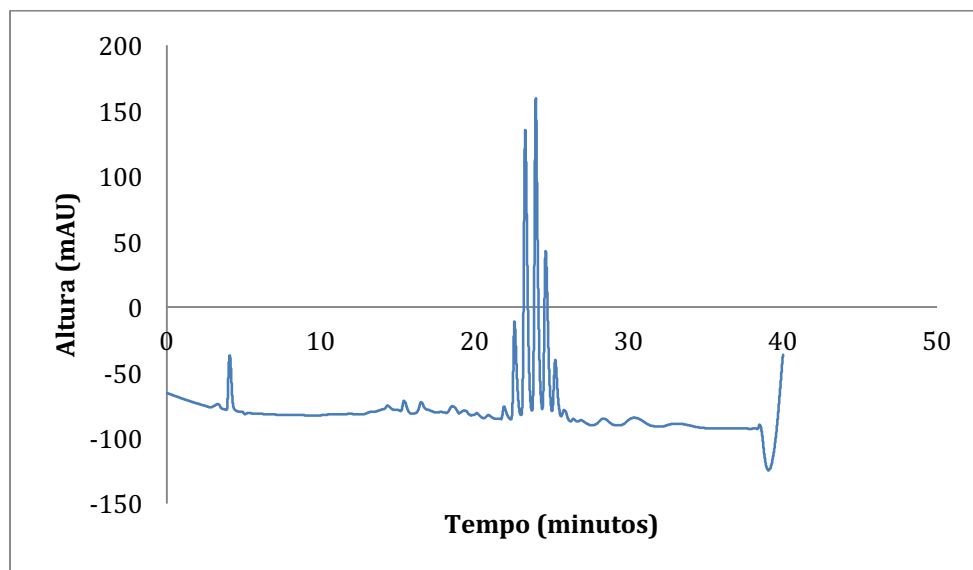


Figura 29: Cromatograma obtido para a produção de biodiesel via rota enzimática com enzima *Yarrowia lipolytica* após o período de 72 horas utilizando óleo de buriti.

As áreas correspondentes a cada uma das amostras, produzidas via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* após o período de 72 horas, a partir de cada um dos óleos utilizados, e o respectivo percentual de ésteres na amostra encontram-se na Tabela 8.

Tabela 8: Áreas correspondentes a cada um dos componentes de cada biodiesel produzido via enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* para o período de 72 horas e o respectivo percentual de ésteres.

Óleos	MAG (mAU*min)	EsMAG (mAU*min)	DAG (mAU*min)	TAG (mAU*min)	Ésteres (%)
Fritura	16,27	0	3,19	339,75	0
Soja	15,91	0	22,65	360,39	0
Buriti	11,05	0	18,29	318,77	0

Conforme verificado, todos os produtos analisados, produzidos via rota enzimática com enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* por 72 horas, utilizando os diferentes óleos possuíam percentual desprezível de ésteres, indicando que não houve conversão.



## 6. CONCLUSÃO

De acordo com as análises feitas em Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE), os três óleos utilizados para a produção do biodiesel possuíam altos índices de triacilgliceróis.

Analisando-se os cromatogramas obtidos via rota alcalina homogênea, foi possível observar que em todas as amostras houve conversão de triacilgliceróis em ésteres. Além disso, comparando-se os óleos utilizados como matéria-prima para a produção de biodiesel, o óleo de fritura demonstrou ser o mais reativo, já que apresentou o maior percentual de ésteres, com conversão de 42,47%

A enzima lipase de *Yarrowia lipolytica* produzida em nosso laboratório não apresentou significativa conversão dos óleos utilizados em ésteres. Este fato condiz com os resultados encontrados por (AKIL, 2016), onde a enzima apresenta eficiência em reações de hidrólise, mas não nas reações de esterificação. Contudo, a enzima lipase comercial pelo *Penicillium camemberti* também não se mostrou eficiente na síntese de biodiesel nas condições estudadas. Sendo assim, não é possível afirmar que a lipase sintetizada por nosso grupo de pesquisa não tem potencial para aplicação na síntese de biodiesel.

É importante estudar com mais detalhes os parâmetros reacionais e modificá-los para que a rota enzimática venha a ser uma alternativa mais promissora. Em suma, a rota química continua sendo mais vantajosa, pois possui maior conversão em ésteres e sua tecnologia já é amplamente difundida comercialmente.

## 7. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS

Tanto para a rota enzimática utilizando enzima comercial, quanto para a rota enzimática utilizando a enzima lipase de *Yarrowia Lipolytica* produzida em nosso laboratório, não foi verificada conversão após análise por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE). Dessa forma, sugere-se:

- Variação da concentração do álcool no meio reacional;
- Adição gradativa do álcool, a fim de diminuir a concentração do mesmo no meio, mantendo a proporção etanol:óleo de 3:1.
- Aumento na quantidade de enzima utilizada.
- Realização da síntese em sistema que promova uma maior mistura entre as fases facilitando a atuação enzimática.

## 8. REFERÊNCIAS

AGUIEIRAS, E. C. G. et al. **Biodiesel production from Acrocomia aculeata acid oil by (enzyme /enzyme) hydroesterification process**: use of vegetable lipase and fermented solid as low-cost biocatalysts. Fuel, v. 15, p. 315-321, 2014.

AKIL, Emília. **Lipase de Yarrowia lipolytica: caracterização da seletividade na hidrólise e produção de lipídios estruturados de interesse nutricional**. 2016. 146 f. Tese (Doutorado em Ciências). Programa de Pós-graduação em Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Instituto de Química, Rio de Janeiro, 2016.

ANP, Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Resolução ANP No 14, DE 11.5.2012. Brasil, 2012.

ANP. Biodiesel. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis/biodiesel>>. Acessado em 28 Jul. 2017.

ANP. Boletim Mensal do Biodiesel de Fevereiro de 2017. Disponível em: <[http://www.anp.gov.br/wwwanp/images/publicacoes/boletins-anp/Boletim\\_Mensal\\_do\\_Biodiesel/2017/Boletim\\_Biodiesel\\_FEVEREIRO\\_2017.pdf](http://www.anp.gov.br/wwwanp/images/publicacoes/boletins-anp/Boletim_Mensal_do_Biodiesel/2017/Boletim_Biodiesel_FEVEREIRO_2017.pdf)>. Acessado em 14 Set. 2017.

BRÍGIDA, A. I. S. **Imobilização de lipases utilizando fibra da casca de coco verde como suporte para aplicações industriais**. 2010. 193 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2010.

BERGMANN, J. C.; TUPINAMBÁ, D. D.; COSTA O. Y. A.; ALMEIDA, J. R. M.; BARRETO, C.C.; QUIRINO, B. F. **Biodiesel production in Brazil and alternative biomass feedstocks**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 2013.

BORDES, F.; BARBE, S.; ESCALIER, P.; MOUREY, L.; ANDRÉ, I.; MARTY, A.; TRANIER, S. **Exploring the conformational states and rearrangements of *Yarrowia lipolytica* lipase.** Biophysical journal, v. 99(7): 2225-2234, 2010.

CERVERÓ, J. M., ÁLVAREZ, J. R.; LUQUE, S. **Novozym 435-catalyzed synthesis of fatty acid ethyl esters from soybean oil for biodiesel production.** Biomass and Bioenergy, v. 61, p. 131-137, 2014.

DAVIS, J. R. **Corrosion: Understanding the Basics.** Materials Park: ASM International, 2000.

FARAH, M.A. **Petróleo e seus derivados: definição, constituição, aplicação, especificações, características de qualidade.** Rio de Janeiro: LTC, 2012.

FARIAS, M. A. **Produção de ésteres etílicos na faixa do biodiesel com lipase de *Yarrowia lipolytica* obtida a partir de co-produtos da macaúba.** 2014. 160 f. Tese (Doutorado em Processos Químicos e Bioquímicos). Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2014.

FERNANDES, F. M.; SILVA, M. S.; LIMA; A. M. F. L.; ROCHA, A. M.; SOARES, P. M.; KONISH, F. **Biodiesel no mundo e no Brasil: Situação atual e cenário futuro.** 10º Congresso sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural, 2015.

FJERBAEK, L.; CHRISTENSEN, K. V.; NORDDAHL, B. **A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification.** Biotechnology and Bioengineering, v. 102, n. 5, p. 1298-315, 2009.

GIACOMIN, I. J. F.; SANTOS, K. C.; de SOUZA, K. M.; BARAÑANO, A. G.; **Caracterização de matérias primas para produção de biodiesel.** V Semana de Engenharia Química UFES, 2016.

GOG, A.; ROMAN, M.; TOSA, M.; PAIZS, C.; IRIMIE, F. D. **Biodiesel production using enzymatic transesterification** – Current state and perspectives. *Renewable Energy*, v. 39, n. 1, p. 10-16, 2012.

KUSDIANA, D.; SAKA, S. **Effects of water on biodiesel fuel production by cupercritical methanol treatment**. *Bioresour Technol*, v. 91, p. 289-95, 2004.

LEE, C. C.; LIÃO, H. F.; SHIELD, C. J. **Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology**. *Bioresource technology*, v. 88, p. 103-106, 2003.

LIMA, J. R. C. **Produção de bioprodutos por yarrowia lipolytica imufrij 50678 a partir de glicerol bruto proveniente do biodiesel de soja**. 2014. 132 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Rio de Janeiro, 2014.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. **Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos**. *Química Nova*, Vol. 32, No. 6, 2009.

LOTERO, E.; LIU, Y.; LOPEZ, D. E.; SUWANNAKARN, K.; Bruce, D. A.; GOODWIN, J. G.; *Ind. Eng. Chem. Res*, 2005.

MAGALHÃES, S. P. **Estudo da reação de transesterificação enzimática do óleo de palma e do comportamento das fases envolvidas**. 2014. 173 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química). Programa de pós-graduação em Engenharia Química, COPPE, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil, 2014.

MARTÍN, E. H., OTERO, C. **Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym-35 and Novozym-TL IM**. *Bioresource technology*, v. 99, p. 277-286, 2008.

MARTINS, G. C.; SERGIO, T.; LEDO, M. L. **Transesterification of soybean oil catalyzed by sulfated zircônia**. Bioresour Technol, v. 99, p. 6608-13, 2008.

MESSIAS, J. M. ; COSTA, B. Z.; LIMA, V. M. G.; GIESE, E.C.; DEKKER, R.F.H.; BARBOSA, A.M. **Lipases microbianas: Produção, propriedades e aplicações biotecnológicas**. Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas, Londrina, v. 32, n. 2, p. 213-234, 2011.

MIRANDA, J. L.; MOURA, L. C. **Biodiesel, obtenção e análise de qualidade**. Rio de Janeiro: Publit Soluções Editoriais, 2016.

NUNES, P. M. B. **Produção de lipases associadas às células de *Yarrowia lipolytica* usando óleo de fritura residual**. 2015. 148 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, 2015.

PERLINGEIRO, C. A. G. **Biocombustíveis no Brasil: fundamentos, aplicações e perspectivas**. Rio de Janeiro: Synergia, 2014.

POPPE, J. K. **Síntese de ésteres metílicos catalisada por lipase B de *Candida antarctica* imobilizada em suportes hidrofóbicos**. 2012. 85 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre. 2012.

QUELHAS, T. J. S. S. S. **Otimização Energética na Produção de Biodiesel**. 2012. 80f. Trabalho de conclusão de curso (Engenharia Química) - Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

RAMOS, L. P.; KOTHE, V.; CÉSAR-OLIVEIRA, M. A. F.; MUNIZ-WYPYCH, A. S.; NAKAGAKI, S.; KRIEGER, N.; WYPYCH, F.; CORDEIRO, C. S. **Biodiesel: Matérias-primas, tecnologias de produção e propriedades combustíveis**. Revista Virtual Química, 2017.

RATHORE, V.; MADRAS, G. **Synthesis of biodiesel from edible and non-edible oils in supercritical alcohols and enzymatic synthesis in supercritical carbon dioxide**. Fuel, v. 86, p. 2650-2659, 2007.

REN 21, **Relatório da Rede de Políticas de Energias Renováveis de 2016**. Disponível em: <<http://www.ren21.net/status-of-renewables/global-status-report>>. Acessado em 15 Agosto 2017.

RIBEIRO, B. D, A. M. DE; COELHO, M. A. Z.; FREIRE, D. M. G. **Production and use of lipases in bioenergy: a review from the feedstocks to biodiesel production**. Enzyme research, v. 200, p. 1-16, 2011.

ROTTIG, A.; WENNING, L.; BROKER, D.; STEINBÜCHEL, A. **Fatty acid alkyl esters: perspectives for production of alternative biofuels**. Applied Microbiology and Biotechnology, v. 85, n. 6, p. 1713-33, 2010.

ROYON, D.; DAZ, M.; ELLENRIEDER, G.; LOCATELLI, S. **Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using t-butanol as a solvent**. Bioresource Technology, v. 98, n. 3, p. 64853, 3, 2007.

SANTOS, L. K.; CALERA, G. C.; STRINGACI, J. C. T.; VILAÇA, S. M.; VIVIANI, V. E.; FLUMIGNAN, D. L. **Estado da arte da aplicação do processo de hidroesterificação na produção de biodiesel a partir de matérias-primas de baixa qualidade**. Revista Principia, No. 28, 2015.

SANTOS, T. C. **Imobilização de lipase em nanopartículas magnéticas e sua aplicação na extração de carotenoides e ácidos graxo do óleo de palma (*Elaeis***

**Guineenses**). 2017. 190 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos, Rio de Janeiro, 2017.

SERIO, M. DI; TESSER, R.; PENGMEI, L.; SANTACESARIA, E. **Heterogeneous catalyst for biodiesel production**. Energy & Fuels, v. 22, n. 1, p. 207, 2008.

SESHU, B. N.; SREE, R.; SAI, P.; LINGAIAH, N. **Room-temperature transesterification of edible and non edible oils using a heterogeneous strong basic Mg/La catalyst**. Energy Fuels, v. 22, p. 1965-71, 2008.

SILVA, J. F. R.; SILVA, L. S. A.; S, D. D.; CONCEIÇÃO, M. M.; SOUZA, A. G. **Otimização da síntese do biodiesel de girassol utilizando misturas de metanol e etanol**. I Congresso Nacional de Engenharia de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.

SOARES, K. M. C., **Desenvolvimento de nova alternativa para produção de biodiesel via catálise básica**. 2016. 31f. Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado em Química Tecnológica) - Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SOUZA, L. T. A. **Síntese enzimática do biodiesel de Jatropha curcas pela rota etílica**. 2010. 117f. Dissertação (Mestrado em Processos Catalíticos e Biocatalíticos) - Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2010

TAPANES, N. C.; ARANDA, D. A. G.; PEREZ, R. S.; CRUZ, Y. R. **Biodiesel no Brasil: Matérias primas e tecnologias de produção**. Acta Scientiae & Technicae, Vol. 1, No. 1, 2013.

VYAS, A. P.; VERMA, J. L.; SUBRAHMANYAM, N. **A review on FAME production process**. Fuel, v. 89, n. 1, p. 1-9, 2010.



WATANABE, Y., SHIMADA, Y., SUGIHARA, A., NODA, H. FUKUDA, H., TOMINAGA, Y. **Continuous production of biodiesel fuel from vegetable oil using immobilized *Candida antarctica* lipase.** Journal of the American Oil Chemists' Society. V. 77, p. 355-360, 2000.

WOLSKI, E. **Estudo comparativo da produção de lipase por fermentação submersa utilizando *Penicillium sp.* livre e imobilizado.** 2008. 84 f. Dissertação (Mestrado), URI-Erechim, 2008.

YOUNG, A.; PESSOA, F.; QUEIROZ, E. **Tecnologias de produção de biodiesel: Produção em meio supercrítico e em meio enzimático.** 1. Ed. Rio de Janeiro: Novas Edições Acadêmicas, 2015.

YOUNG, André Ferreira. **Simulação e avaliação econômica da produção de biodiesel em meio supercrítico e em meio enzimático.** 2015. 177f. Tese (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.