

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL  
UNIDADE UNIVERSITÁRIA EM SANTA CRUZ DO SUL  
CURSO DE BACHARELADO EM ENGENHARIA DE BIOPROCESSOS E  
BIOTECNOLOGIA

TÁSSIA LARRINE SANTOS DA SILVA

ENZIMAS PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PERSPECTIVA GERAL

SANTA CRUZ DO SUL

2022

TÁSSIA LARRINE SANTOS DA SILVA

ENZIMAS PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PERSPECTIVA GERAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, da UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, como requisito parcial para a Obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini.

SANTA CRUZ DO SUL

2022

TÁSSIA LARRINE SANTOS DA SILVA

ENZIMAS PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL: UMA PERSPECTIVA GERAL

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, da UNIVERSIDADE ESTADUAL DO RIO GRANDE DO SUL, como requisito parcial para a Obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia.

Santa Cruz do Sul, 03 de Julho de 2022

BANCA EXAMINADORA

---

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Viera Migliorini.  
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

---

Avaliador: Prof. Dr. Evilazio da Silva Andrade  
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

---

Avaliador: Prof. Dr. Rodrigo Sanchotene Silva  
Universidade Estadual do Rio Grande do Sul - UERGS

“Sabedoria e conhecimento te são dados; e te darei riquezas, bens e honra, quais não teve nenhum rei antes de ti, e nem depois de ti haverá.”

2 Crônicas 1:12

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, por estar sempre presente na minha vida, sustentando-me com Sua destra fiel. Toda honra e glória são para Ti, Senhor.

Ao meu marido Carlo Andrei, que sempre me apoiou nessa e nas demais etapas da minha vida. Só sou o que sou porque tenho você. Louvado seja Deus por sua existência. Você é o amor da minha vida.

Ao meu avô José Antônio (in memoriam), por seu amor de pai, sua humildade, bondade e carinho de avô quando necessário; sua existência deixou marcas inesquecíveis de amor e de gratidão em mim para sempre.

À minha avó Maria Elena, por sempre me amar incondicionalmente, por seu carinho, pela educação que me deu; nenhuma riqueza deste mundo seria capaz de pagar o que a senhora fez por mim a vida toda. Meu coração é seu. A minha força e garra vêm de ti. Amo-te eternamente.

À minha mãe Claudia Elisa, pela vida e seu amor incondicional de mãe, por suas palavras de apoio e de ajuda. Amo-te infinitamente.

Aos meus irmãos Cássio, Murilo e Aysha. Vocês são mais do que mereço nesta vida, meus companheiros de jornada. Amo cada um com todo o meu coração.

Sou grata a meus tios, tias e primos por me acompanharem e me apoiarem nesta jornada.

À família do meu marido, que considero minha também. A meus sogros Cláudio (in memoriam), que partiu tão prematuramente, deixando um vazio imenso em nossos corações e vidas, mas sei que o senhor está olhando por todos nós. À Zaira, por seu amor e dedicação; aos cunhados Osvaldo Arthur, Lílian e Luciana. Vocês são meus irmãos de coração. A Mel, Duda e Larinha. Vocês são a nossa alegria. Obrigada pelo apoio, conselhos e amor de cada um. Amarei vocês para sempre.

À tia Sonia (in memoriam). A senhora partiu antes desse meu feito, mas sei que está olhando por todos nós ao lado de Deus. Seu sorriso nos faz falta.

Ao meu orientador Marcelo, por seus ensinamentos, amizade, conselhos e paciência comigo ao longo dessa caminhada que perdurou por dois semestres.

À UERGS, aos professores, aos agentes administrativos, ao chefe da unidade e ao coordenador do curso.

À Ana Julia e Manoela, por esse encontro de almas. Amo vocês.

À Lívia e Stéphanie, por todo o companheirismo, amizade, carinho e ajuda, tornando mais leve e mais fácil essa caminhada que chamamos de graduação e que será para a vida de agora em diante. Amo vocês.

## RESUMO

O aumento da conscientização ambiental e o esgotamento do diesel derivado do petróleo abriram caminho para a busca de combustíveis alternativos. Dentre as várias opções disponíveis, o biodiesel é altamente atrativo e escalável. O biodiesel é preferível ao diesel de petróleo, pois pode ser derivado de fontes vegetais e animais abundantemente disponíveis. Além disso, as emissões da combustão do biodiesel são relativamente limpas, não tóxicas e não cancerígenas. A produção convencional de biodiesel, que envolve o uso de catalisador químico, é realizada em temperaturas relativamente altas próximas ao ponto de ebulição do álcool e produz muitos subprodutos indesejados, como o sabão. A separação do biodiesel desses subprodutos e do glicerol é difícil, o que torna esse método caro e complicado. Para superar esses inconvenientes, biocatalisadores como enzimas têm sido propostos para substituir os catalisadores químicos, que têm mostrado resultados promissores devido à sua alta seletividade e condições operatórias leves. Além disso, não há necessidade de purificação da matéria-prima, uma vez que o biocatalisador, a lipase, é capaz de esterificar os ácidos graxos livres presentes na matéria-prima juntamente com os triglicerídeos transesterificantes. Esta revisão tem, portanto, o objetivo de fornecer informações sobre recentes avanços na produção de biodiesel, estudos de aplicações que estão sendo feitas com enzimas como biocatalisadores e estudos voltados para redução e um aproveitamento maior desses subprodutos do biodiesel, que, devido a sua quantidade, acabam se tornando um grande inconveniente de escala industrial.

**Palavras-chave:** Biodiesel; Biocatálise; Enzimas; Subprodutos.

## ABSTRACT

Increasing environmental awareness and the depletion of petroleum-derived diesel have paved the way for the search for alternative fuels. Among the various options available, biodiesel is highly attractive and scalable. Biodiesel is preferable to petroleum diesel as it can be derived from abundantly available plant and animal sources. Furthermore, emissions from biodiesel combustion are relatively clean, non-toxic and non-carcinogenic. Conventional biodiesel production, which involves the use of a chemical catalyst, is carried out at relatively high temperatures close to the boiling point of alcohol and produces many unwanted by-products such as soap. Separating biodiesel from these by-products and glycerol is difficult, which makes this method expensive and complicated. To overcome these drawbacks, biocatalysts such as enzymes have been proposed to replace chemical catalysts, which have shown promising results due to their high selectivity and light operating conditions. Furthermore, there is no need to purify the raw material, since the biocatalyst, lipase, is able to esterify the free fatty acids present in the raw material together with the transesterifying triglycerides. This review has, therefore, the objective of providing information on recent advances in the production of biodiesel, studies of applications that are being made with enzymes as biocatalysts and studies aimed at reducing and making better use of these biodiesel by-products, which, due to their , end up becoming a major inconvenience on an industrial scale.

**Keywords:** Biodiesel; Biocatalysis; Enzymes; By- products.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fluxograma das três classes de biocatálise .....	18
Figura 2: Rudolf Diesel (1858-1913), sua invenção e o registro de patente de 23 de fevereiro de 1893.....	26
Figura 3: Percentual de matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil.....	27
Figura 4: Fluxograma do processo de produção do biodiesel. ....	29
Figura 5: Percentual de entradas e saídas do processo de produção do biodiesel.....	29
Figura 6: Equações da reação de transesterificação de um triacilglicerídeo com metanol catalisado por hidróxido de potássio. ....	31
Figura 7: Reação secundária da transesterificação: reação de saponificação. ....	32
Figura 8: Esquema do processo de produção de biodiesel com enzimas. ....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Princípios da Química Verde X Biocatálise.....	13
Tabela 2: Métodos de imobilização de enzimas, tipos de suportes e aplicações dos sistemas imobilizados na obtenção de produtos de interesse industrial. ....	22
Tabela 3: Lista das enzimas e as indústrias onde elas são aplicações. ....	24
Tabela 4: Estudo da produção de biodiesel usando enzimas. ....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGL	Ácidos Graxos Livres
DMSO	DimetilSulfóxido
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
ESI-MS	Espectrometria de massas com ionização por electrospray
IUPAC	União Internacional de Química Pura e Aplicada
PCR	Reação em cadeia da Polimerase
SBL	Subtilisin Bacilus Lentus

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	12
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	16
2.1	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	16
3	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	17
3.1	BIOCATÁLISE .....	17
3.1.1	<b>Catálise suportada</b> .....	20
3.1.2	<b>Enzimas</b> .....	23
3.2	BIODIESEL .....	25
3.2.1	<b>Histórico e legislação</b> .....	25
3.3	MÉTODO DE OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO .....	30
3.3.1	<b>Catálises químicas</b> .....	32
3.3.2	<b>Catálises enzimáticas</b> .....	32
4	<b>PERSPECTIVAS FUTURAS</b> .....	36
5	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	38
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

## 1 INTRODUÇÃO

Estudos mostraram que as fontes renováveis de energia são de grande importância devido à diminuição de ou estimativa de redução das reservas de combustíveis fósseis e aos efeitos ambientais negativos dos gases de exaustão da queima de combustíveis fósseis. A estrutura energética dominada por combustíveis fósseis resultou em uma enorme quantidade de emissões de gases de efeito estufa (GEE).

Abriram caminho para a busca de combustíveis alternativos. Dentre as várias opções disponíveis, o biodiesel representa uma opção altamente atrativa e escalável. O biodiesel é preferível ao diesel de petróleo, pois pode ser derivado de fontes vegetais e animais abundantemente disponíveis. Além disso, as emissões da combustão do biodiesel são relativamente limpas, não tóxicas e não cancerígenas (Rinaldi, *et al.*, 2007).

Ésteres metílicos de ácidos graxos, comumente chamados de biodiesel, podem ser produzidos por transesterificação de triglicerídeos, como óleos vegetais. No entanto, devido ao alto custo dos óleos vegetais puros, o que representa a elevação dos custos de produção do biodiesel, há necessidade de buscar uma matéria-prima alternativa de baixo custo e que não concorra com o estoque de alimentos continuou nos últimos anos.

Os biodieseis de primeira geração foram derivados principalmente de fontes vegetais e animais comestíveis. No entanto, existem várias preocupações relacionadas ao biodiesel de primeira geração (derivado de culturas alimentares), incluindo a produção insustentável devido ao desmatamento, uso da água e manejo da terra (FAO, 2008).

Outras questões associadas à produção em larga escala de biocombustíveis de primeira geração incluem a competição com a produção de alimentos, levando ao aumento dos custos dos alimentos. Como resultado, há um interesse crescente em biocombustíveis de segunda geração (derivados de fontes não alimentares) que têm o potencial de minimizar as preocupações acima (FAO, 2008).

O biodiesel de segunda geração é produzido a partir de fontes não alimentares, como culturas energéticas dedicadas, derivadas de fontes vegetais, relatadas no passado recente incluem óleo de mamona, pinhão-manso, *Calophyllum*

inophyllum (Puna), semente de algodão e óleo de girassol, e outras plantas lignocelulósicas, biomassa residual (por exemplo, resíduos agrícolas e florestais) (RINALDI, *et al.*, 2007).

A separação do biodiesel desses subprodutos e do glicerol é difícil, o que torna esse método caro e complicado. Para superar esses inconvenientes, biocatalisadores como as enzimas têm sido propostos para substituir os catalisadores químicos, que têm mostrado resultados promissores devido à sua alta seletividade e condições operatórias, aproximando-as dos pré-requisitos para a química verde, que era uma necessidade crucial de produtos químicos alternativos, mais limpos, que fossem mais eficientes em termos de recursos e produzissem menos resíduos, ou seja, que produzissem menor impacto ambiental (tabela 1).

Tabela 1: Princípios da Química Verde X Biocatálise.

PRINCIPIO DA QUIMICA VERDE	BIOCATALISE
1º) Prevenção de resíduos	Reduz significativamente o desperdício
2º) Economia ou eficiência atômica	Mais econômico em átomos
3º) Redução da toxicidade	Etapas geralmente de baixa toxicidade
4º) Desenvolvimento de produtos seguros e eficientes	
5º) Eliminar ou tornar seguros solventes e outros auxiliares de reação	Geralmente realizada em condições amenas
6º) Otimização do uso de energia	Energeticamente eficientes
7º) Uso de matérias-primas de fontes renováveis	São renováveis
8º) Evitar derivações desnecessárias	Evita etapas de derivatização
9º) Catálise	Enzimas catalisadoras
10º) Desenvolvimento de produtos degradáveis após o término de vida útil	
11º) Monitoramento/controle de processos em tempo real	Aplicabilidade em processos biocatalíticos
12º) Desenvolvimento de processos seguros	Condições brandas e seguras

Fonte: Autora (2022).

Hoje, é viável aperfeiçoar enzimas para se adequar a um processo ótimo predefinido, além disso, suas estabilidades operacionais e de armazenamento podem ser otimizadas por imobilização efetiva, permitindo assim sua recuperação econômica e reciclagem múltipla como sólidos de fluxo livre. Assim, a biocatálise evoluiu para uma tecnologia industrialmente atraente e foi integrada à síntese orgânica convencional, particularmente para a síntese enantiosseletiva de intermediários farmacêuticos ativos. O uso generalizado de métodos biocatalíticos também é consequência de seus inúmeros benefícios econômicos e ambientais. O catalisador (uma enzima) é produzido a partir de recursos renováveis prontamente disponíveis e é biodegradável e essencialmente não perigoso e não tóxico. Ademais, o uso de metais preciosos escassos e os custos subsequentes de remoção de

vestígios de metais nobres dos produtos finais são contornados. As reações enzimáticas são geralmente realizadas em condições brandas de temperatura ambiente e pressão atmosférica em água, muitas vezes sem a necessidade de etapas de ativação, proteção e desproteção de grupos funcionais. Isso proporciona rotas que são mais econômicas e geram menos resíduos do que as sínteses orgânicas convencionais. Conseqüentemente, os métodos biocatalíticos são mais atrativos do ponto de vista ambiental, mais econômicos e, portanto, mais sustentáveis. Além disso, processos com enzimas isoladas podem ser conduzidos em reatores bateladas multiuso padrão, evitando assim a necessidade de investimentos extras, como em equipamentos de alta pressão. Como os processos enzimáticos são geralmente conduzidos sob aproximadamente as mesmas condições de temperatura e pressão, é relativamente fácil integrar múltiplas transformações em processos em cascata economicamente e ambientalmente atraentes. Em suma, a biocatálise é uma tecnologia verde e sustentável. Não é apenas benéfico para o meio ambiente, mas também, graças aos avanços da biotecnologia, é econômico (HAILIN, *et al.*, 2020).

Também, não há necessidade de purificação da matéria-prima, uma vez que o biocatalisador, a lipase, é capaz de esterificar os ácidos graxos livres presentes na matéria-prima juntamente com os triglicerídeos transesterificantes (SHELDON, *et al.*, 2017).

O biodiesel é obtido a partir da reação de transesterificação envolvendo um óleo vegetal ou gordura animal e um álcool de cadeia curta como metanol ou etanol na presença de um catalisador adequado (ácido, base ou catalisador bioquímico). Em comparação com os catalisadores químicos, as enzimas requerem uma temperatura de reação relativamente baixa e uma proporção molar menor de álcool para óleo. Os catalisadores químicos requerem pré-tratamento de vários estágios se a matéria-prima contiver ácidos graxos livres (AGL), particularmente quando esse teor for superior a 0,5% em peso da matéria-prima. Ademais, desvantagens como contaminação do produto, geração de efluentes, interferências do (AGL) e água e recuperação de glicerol podem ser facilmente contornadas se forem usados catalisadores enzimáticos. Ao usar catalisadores enzimáticos, é necessário recuperar e reutilizar enzimas para reduzir o custo de processamento. A imobilização

de enzimas facilita a recuperação e permite a reutilização de enzimas caras por vários ciclos (SHELDON, *et al.*, 2017).

Esta revisão tem, portanto, o objetivo de fornecer informações sobre recentes avanços na produção de biodiesel, estudos desenvolvidos com enzimas utilizadas como biocatalisadores e suas aplicações.



## 2 OBJETIVOS

O presente trabalho tem, como objetivo geral, realizar uma revisão bibliográfica, com base em artigos científicos, dissertações, teses e demais literaturas especializadas no tema de biodiesel, biocatálise e enzimas.

### 2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Os objetivos específicos são descritos abaixo:

- a) Associar essa base de dados com outras revisões bibliográficas;
- b) Fornecer suporte teórico bibliográfico para ser utilizado em estudos futuros.

### 3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1 BIOCATÁLISE

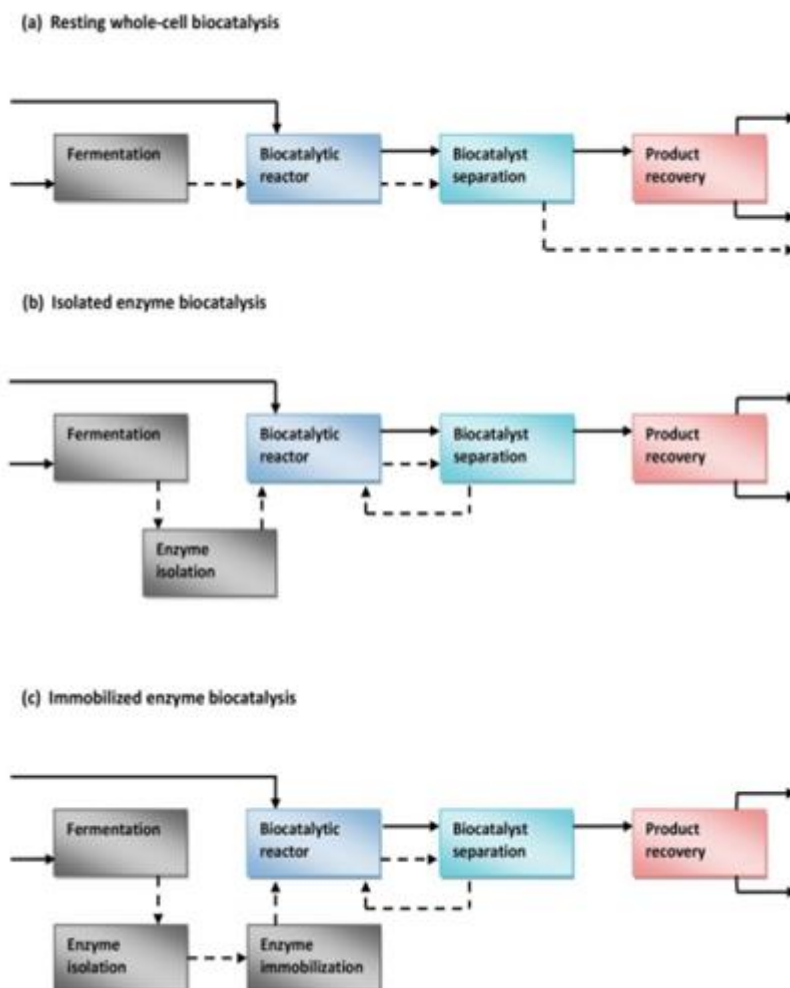
A biocatálise é verde e sustentável com o trabalho marcante de Zaks e Klivanov em 1984, mostrando que as lipases são mais estáveis termicamente em solventes orgânicos, como o tolueno, do que em água, levou à percepção de que as enzimas poderiam ser amplamente aplicadas na síntese orgânica. Enzimas consistiam basicamente em hidrolases, como lipases e proteases, usadas no processamento de alimentos e bebidas e detergentes para roupas. Em grande parte graças aos avanços da biotecnologia, essa situação mudou drasticamente nas últimas duas décadas. Aproveitando os avanços no sequenciamento de DNA (Ácido Desoxirribonucleico) de alto rendimento, mais de 20.000 genomas bacterianos e fúngicos foram sequenciados e os dados ficaram disponíveis em domínio público. Atualmente, um gene alvo pode ser identificado in silico por “mineração de genoma” de tais bancos de dados. O gene pode então ser sintetizado, dentro de uma semana; subsequentemente clonado em um microrganismo hospedeiro; e graças à tecnologia do DNA recombinante, produzido em escala industrial a preços aceitáveis. Há vinte e cinco anos, era necessário modificar o processo para acomodar a enzima disponível (SHELDON, *et al.*, 2017).

Os biocatalisadores empregados em processos enzimáticos são as lipases (glicerol éster hidrolases, triacilglicerol lipase), enzimas cuja função biológica é a de catalisar hidrólise de gorduras e óleos, liberando ácidos graxos livres, diacilgliceróis, monoacilgliceróis e glicerol livre. No entanto, dependendo das condições, essas enzimas também podem atuar como catalisadores de reações de acidólise, aminólise, alcoólise (transesterificação), esterificação e interesterificação. Enquanto biocatalisadores, as lipases apresentam vantagens importantes sobre os catalisadores clássicos, como a especificidade, a regioseletividade e a enantioseletividade, que permitem a catálise de reações com um número reduzido de subprodutos, com baixo custo no tratamento de resíduos e necessitando de condições brandas de temperatura e pressão (FACIOLI, *et al.*, 1998).

A figura 1 classifica esses processos biocatalíticos em três grupos, dependendo do formato do biocatalisador usado para a conversão: (a) biocatálise de

célula inteira em repouso, (b) biocatálise enzimática isolada e (c) biocatálise de enzima imobilizada. (RAMOS, *et al.*, 2020).

Figura 1: Fluxograma das três classes de biocatálise



Fonte: RAMOS, *et al.*, 2020.

Na figura 1a, é uma biocatálise de célula inteira em repouso, representando aqueles casos em que o crescimento do biocatalisador e a subsequente conversão do substrato em produto podem ser separados enquanto ainda operam no formato de célula inteira. Quando comparamos com a fermentação, essa abordagem traz várias vantagens, incluindo o uso de meios de reação alternativos e rendimento aumentado muitas vezes. A figura 1b é uma biocatálise enzimática isolada, em que a enzima é usada fora da célula em que foi produzida. Nesses casos, ou a enzima foi secretada durante a fermentação ou as células precisam ser rompidas após a

fermentação (e os restos celulares removidos), para produzir uma enzima solúvel, embora não purificada. Usar uma proteína não purificada evita o custo adicional de purificação. E na figura 1c, a enzima é imobilizada, preferencialmente em um sólido esférico ou dentro de um suporte poroso, para facilitar a remoção da corrente de produto por simples microfiltração e, assim, possibilitar a reciclagem subsequente (RAMOS, *et al.*, 2020).

Atualmente, o processo de produção comercial de biodiesel é majoritariamente realizado por via química, mas a rota enzimática, devido às suas vantagens como utilização e produção de resíduos inócuos ao meio ambiente, tem despertado grande interesse na comunidade científica.

Um aspecto comum a esses processos é a busca pela otimização das condições de reação, de modo a lhes conferir características que os tornem viáveis e disponíveis para aplicações industriais. Contudo, entre algumas desvantagens essencialmente econômicas, o processo enzimático, uma vez otimizado, poderá apresentar vantagens muito interessantes em relação ao processo químico (CASTRO, *et al.*, 2016).

No entanto, em função do alto custo associado ao isolamento e purificação de lipases microbianas e de origem animal, a aplicação dessas enzimas em processos industriais tem sido limitada a casos onde o produto apresenta alto valor agregado. Para tentar equacionar esse problema, vários estudos têm sido orientados ao uso de lipases vegetais, principalmente porque o seu custo de produção é significativamente menor. Além disso, as lipases vegetais também podem apresentar outras vantagens, pois, além de possuírem elevada seletividade e especificidade (em alguns casos, similares às microbianas), não exigem um alto grau de purificação e podem ser obtidas com grande facilidade no mercado, na forma de extratos brutos (CASTRO, *et al.*, 2016).

### 3.1.1 Catálise suportada

Outro aspecto diretamente associado ao emprego de enzimas em bioprocessos é a imobilização destas. A imobilização é um processo pelo qual enzimas (ou células) podem ser transformadas em catalisadores heterogêneos. O biocatalisador é confinado em uma determinada matriz, através da qual a solução do substrato é percolada com a subsequente liberação do produto, livre do catalisador e de qualquer contaminação residual (ZHANG, *et al.*, 2012).

Os métodos de imobilização são extremamente variados e estão disseminados, tanto em aplicações industriais, como em procedimentos de análise. Estes podem ser divididos em dois grandes blocos: métodos em que a enzima fica retida no interior da matriz de imobilização e métodos em que a enzima se encontra sobre a superfície do suporte. Relativamente aos métodos em que a enzima fica retida no interior do suporte, a imobilização pode ocorrer pela formação de uma estrutura porosa na presença da enzima, a qual fica aprisionada na matriz tridimensional, ou pela introdução da enzima em uma membrana porosa previamente formada. Em ambos os casos, a enzima fica embebida em um “gel” que deverá possuir porosidade adequada, permitindo a difusão dos substratos e produtos enquanto que a enzima permanece retida no interior da matriz. A imobilização na superfície do suporte pode resultar da adsorção da enzima ao suporte sólido, devido a interações fracas do tipo dipolo-dipolo, ligações de hidrogênio e interações iônicas ou hidrofóbicas, ou ainda da ligação covalente da enzima ao suporte. Na imobilização por ligação covalente (conhecido como, método grafting), a enzima fica irreversivelmente ligada ao suporte, obtendo-se com isso um conjugado estável que não se dissocia durante a imobilização. No entanto, as condições necessárias à formação de uma ligação covalente podem levar a alterações na estrutura tridimensional da enzima, produzindo preparações com baixa atividade catalítica (XIONG, *et al.*, 2021).

O processo de imobilização por adsorção é mais simples e envolve interações enzima-suporte mais suaves e menos específicas, obtendo-se preparações enzimáticas com atividades catalíticas elevadas e rendimentos de imobilização também elevados. A principal desvantagem da imobilização por adsorção se deve a possíveis perdas de enzima, que poderão ocorrer durante a utilização da preparação

enzimática no meio reacional. Os suportes sólidos utilizados são constituídos por vários tipos de materiais, que vão desde o vidro com porosidade controlada, óxido de alumínio, sílica, celite, resinas do tipo Sepharose, a polímeros como agarose, poliamida, polipropileno e polietileno. A escolha do método de imobilização e do tipo de suporte depende essencialmente de dois fatores: das características peculiares da enzima e das condições de uso da enzima imobilizada. Dada à variabilidade desses fatores, não existe um método geral de imobilização, nem um suporte que possa ser considerado de aplicação universal. (XIONG *et al.*, 2021).

Segundo XIONG *et al.* (2021) para o bom de uma enzima imobilizada é dada pelo suporte e mesmo existindo diferentes materiais que podem ser aplicados na imobilização de enzimas, a sua escolha depender, principalmente, das características peculiares da enzima e das condições de uso da biomolécula imobilizada, observe os exemplos de enzimas e alguns tipos de métodos de imobilização, tipos de suportes na tabela 2.

O inconveniente do uso dos suportes porosos são os possíveis problemas relacionados a limitações difusionais, uma vez que o substrato, além de se difundir da solução para a superfície externa, deverá difundir-se também para o interior dos poros do suporte, onde grande parte das moléculas do catalisador está situada. Todavia, a localização das moléculas de enzimas no interior dos poros também confere uma proteção frente a eventuais condições adversas do meio reacional. Os suportes não porosos apresentam como principal vantagem à acomodação das moléculas de enzima apenas na sua superfície externa, o que facilita a interação do catalisador com moléculas de substrato. No entanto, a pequena área superficial exibida por esses suportes é sua mais notória desvantagem. Na tentativa de contornar esse problema, muitos pesquisadores têm optado pela utilização de partículas ou fibras finas; porém, outras dificuldades surgem quando se utilizam esses tipos de materiais como, por exemplo, alta queda de pressão e baixas vazões para operação em reatores contínuos. Os materiais orgânicos, em especial os polímeros, que podem ser naturais ou sintéticos, são uma classe de suportes importantes no campo da imobilização de biocatalisadores, os polímeros sintéticos exibem variedades de formas físicas e estruturas químicas que podem ser combinadas para formar um suporte de acordo com as características desejadas, porém os polímeros naturais apresentam algumas vantagens quando comparados

aos sintéticos, pois geralmente têm baixo custo e são facilmente degradáveis, não causando danos ao meio ambiente (XIONG, *et al.*, 2021).

Tabela 2: Métodos de imobilização de enzimas, tipos de suportes e aplicações dos sistemas imobilizados na obtenção de produtos de interesse industrial.

ENZIMA	SUORTE	MÉTODO DE IMOBILIZAÇÃO
$\alpha$ -Amilase	Nanopartículas de sílica	Adsorção
$\alpha$ -Quimiotripsina	Nanopartículas magnéticas de quitosana	Ligação covalente
$\alpha$ -Galactosidase	Grafeno funcionalizado	Ligação covalente
$\beta$ -Galactosidase	Partículas de quitosana e agarose	Ligação covalente
$\beta$ -Glicosidase	Partículas de quitosana	Ligação covalente
Álcool oxidase	Nanofibras de poliestireno-co-anidrido maleico (PSMA)	Ligação covalente e adsorção seguida de reticulação
Fosfatase alcalina	Lâminas de vidro recobertas por filmes de sílica	Adsorção
Catalase	Nanotubos de titanatos	Ligação covalente
Glicoamilase	Nanotubos de carbono de paredes múltiplas	Ligação covalente
Invertase	poliuretano	Ligação covalente
Lacase	Nanopartículas de titânio e membranas de titânio funcionalizada	Adsorção, Ligação covalente e adsorção seguida de reticulação
Lactatodesidrogenase	Nanopartículas magnéticas revestidas com sílica	Ligação covalente
Lipase	Partículas de poli-hidroxibutirato	Adsorção
Tripsina	Nanopartículas magnéticas decarboximetilquitosana	Adsorção
Urease	Partículas de quitosana	Ligação covalente

Fonte: Souza, *et al.* (2014).

Outra vantagem de se fazer o uso da imobilização das enzimas é a possibilidade de se reutiliza-la no fim do processo, o que, focado para o biodiesel ou algum outro processo, é de grande interesse uma vez que se podem reduzir os custos com a produção com a aquisição dessas enzimas, uma vez que ela pode ser recuperada e reutilizada e imobilizada.

### 3.1.2 Enzimas

Enzimas são proteínas que catalisam reações químicas. Como tal, as enzimas têm sido amplamente utilizadas para facilitar os processos industriais e na produção de produtos, e essas enzimas são referenciadas como enzimas industriais. Apesar de remontar aos tempos antigos, quando as enzimas eram usadas na panificação, fabricação de cerveja, fabricação de queijos, etc., elas eram usadas como microrganismos fermentadores ou como preparações como o rúmen de vitelo ou a papaia (SHELDON, *et al.*, 2017).

Somente nas últimas décadas, o desenvolvimento da tecnologia do DNA recombinante e dos bioprocessos avançados possibilitou a produção e purificação de enzimas em larga escala, permitindo a ampla aplicação de enzimas em diversos produtos e processos industriais, como químico, detergente, têxtil, alimentício, ração animal, couro, celulose e indústrias de papel (SHELDON, *et al.*, 2017).

De acordo com o relatório da Applied Market Research, o mercado global de enzimas industriais foi US\$ 7,1 bilhões em 2017 e chegará a US\$ 10,5 bilhões até 2024 a uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 5,7% de 2018 a 2024. Os mercados de enzimas estimados para 2024 com base nos setores de aplicação são voltados para bebidas, alimentos, detergentes, biocombustíveis, alimentação animal, biofármacos e outros. Um fluxo contínuo de enzimas inovadoras produtos e suas aplicações novas e emergentes estão levando a indústria de enzimas a uma era de expansão sem precedentes (JACKSON, *et al.*, 2010).

Entre as enzimas industriais atualmente utilizadas, as hidrolases, incluindo proteases e lipases, continuam sendo os tipos de enzimas dominantes que são amplamente utilizados nas indústrias de detergentes, laticínios e produtos químicos. Várias carboidrases, principalmente amilases e celulases, representam o segundo maior grupo. A Tabela 3 lista as enzimas e as indústrias onde elas encontram aplicações valiosas. Uma enzima pode ser usada em várias indústrias, enquanto várias enzimas são frequentemente necessárias na mesma aplicação para alta eficiência (JACKSON, *et al.*, 2010).



A aplicação de enzimas em diversas indústrias resultou em economias significativas de recursos como matérias-primas e água consumo e a melhoria da eficácia energética. Isso beneficia grandemente a indústria em questão e o meio ambiente e continuar a desempenhar um papel importante na melhoria da sustentabilidade de nossa sociedade e na qualidade de nossa vida para as próximas gerações (JACKSON, *et al.*, 2010).

Tabela 3: Lista das enzimas e as indústrias onde elas são aplicações.

Enzimas Industriais e suas Valiosas Aplicações		
Enzima	Substrato	Industria
Protease	Proteína, Polipeptídeo	Detergentes para roupa e louça Processamento de comida Aditivos para alimentação animal Processamento de couro Tratamento de esgoto Farmacologia e fabricação de medicamentos
Lipase	Oleo, Gordura	Gordura e oleo Detergentes Comida e panificação Polpa e papel Química fina Materiais
Amilase	Carboidrato	Amido e combustível Corimento Detergentes Têxtil Polpa e papel Bebida
Pululanase	Polissacarídeo	Amido Comida
Pectinase	Pectina	Bebida Têxtil Comida Alimentação animal
Xilanase	Xilano	Polpa e papel Panificação e comida Alimentação animal
Lacase	Benzenodiol	Polpa e papel Têxtil Comida Biorremediação
Transglutaminase	Proteinolamina	Comida Têxtil
Fitase	Fitato	Alimentação animal Comida

Fonte: JACKSON, *et al.*, (2010).

## 3.2 BIODIESEL

### 3.2.1 Histórico e legislação

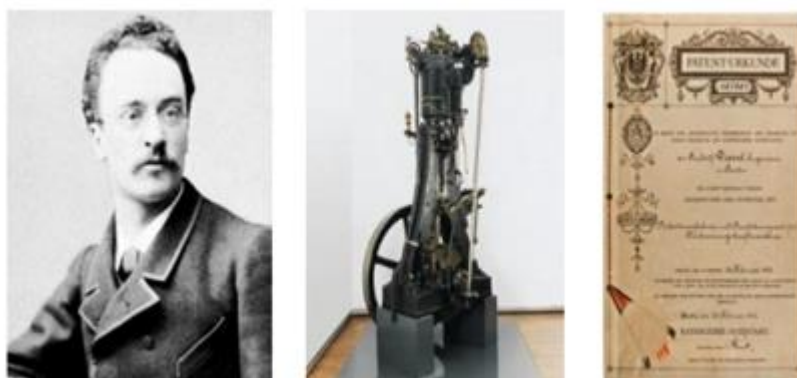
Biodiesel é o nome dado a ésteres alquílicos de ácidos graxos desde que atendam certos parâmetros de qualidade. Além de esses ésteres serem derivados de fontes biológicas como plantas e animais, atuam como combustível substituto ao diesel de petróleo, com desempenho muito próximo, não exigindo modificações nos motores existentes (DABDOUB, *et al.*, 2009).

Segundo Knothe, *et al.*, (2018) a história do biodiesel nasceu junto com a criação dos motores diesel no final do século XIX. O motor com maior eficiência termodinâmica concebida por Rudolf Diesel foi construído para operar com óleo mineral, a pedido do governo francês. O óleo selecionado para os testes foi o de amendoim, cuja cultura era abundante nos países de clima tropical.

O motor diesel, produzido pela companhia francesa Otto, movido a óleo de amendoim, foi apresentado na Exposição de Paris, em 1900. Outros experimentos conduzidos por Rudolf Diesel (figura 2) foram realizados em São Petersburgo, na Rússia, com locomotivas movidas a óleo de mamona e a óleos animais. Em ambos os casos, os resultados foram muito satisfatórios e os motores apresentaram bons desempenhos (Knothe, *et al.*, 2018).

Quando a Segunda Guerra Mundial despontou, muitos governos temiam por seus estoques de suprimentos derivados de petróleo e passaram a adotar o óleo vegetal como combustível de emergência. (Knothe, *et al.*, 2018).

Figura 2: Rudolf Diesel (1858-1913), sua invenção e o registro de patente de 23 de fevereiro de 1893.



Fonte: WIKIPÉDIA (2022).

Na atualidade, o potencial do uso do biodiesel como fonte energética renovável é um dos assuntos de grande relevância no âmbito industrial e acadêmico, embora esse combustível já seja utilizado em um grande número de países mesmo enfrentando sérias dificuldades para competir com o diesel de petróleo, forçou alguns países a estabelecer programas de subsídio ou de uso obrigatório nas misturas com diesel, como é o caso do Brasil (RINALDI *et al.*, 2007).

A definição para biodiesel adotado na Lei no 11.097, de 13 de setembro de 2005, que introduziu o biodiesel na matriz energética brasileira, é:

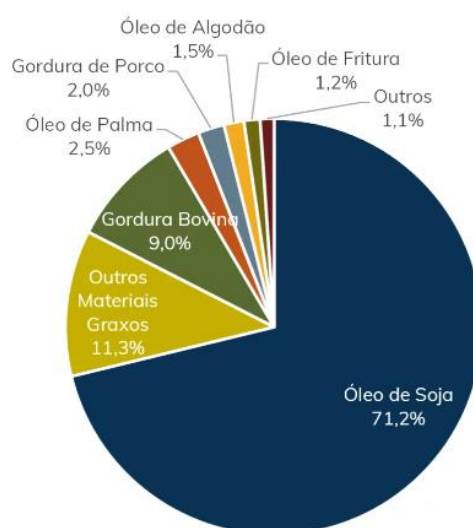
”Biodiesel: biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamentos para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil”.

Mesmo os estudos anteriores mostrarem resultados promissores quanto ao uso de biocombustíveis obtidos a partir de óleos vegetais, a mistura de biodiesel ao diesel fóssil teve início no Brasil em dezembro de 2004, em caráter autorizativo. Em janeiro de 2008, entrou em vigor a mistura legalmente obrigatória de 2% (B2). Com o perceptível amadurecimento do mercado brasileiro, esse percentual foi ampliado pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) sucessivamente até atingir 8% (B8) em março de 2016 (ANP, 2016).

O bio antes do diesel refere-se à fonte de uma das matérias-primas usada na sua produção, que geralmente é de um óleo vegetal, o óleo de soja é o mais

comumente usado nas usinas. Além desse, existem outros óleos vegetais tem sido usados na produção de biodiesel, entre eles destacam-se os óleos de girassol, mamona, pinhão-mansão, dendê (palma), babaçu e amendoim (TAPANES, *et al.* 2013). Os óleos vegetais e gorduras animais apresentam em sua composição os triacilglicerídeos, que são os tri-ésteres que provem do glicerol (um triálcool, cujo nome IUPAC é propano-1, 2, 3-triol) ligado a três ácidos carboxílicos de cadeia longa (ácidos graxos). A figura 3 mostra o percentual das principais matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil (MERÇON, 2010).

Figura 3: Percentual de matérias-primas utilizadas para produção de biodiesel no Brasil.



Fonte: ANP (2020).

Tradicionalmente o biodiesel é produzido através das reações de transesterificação de triglicerídeos, usando geralmente catalisadores alcalinos, ou da esterificação de ácidos graxos livres, sendo que, nesse último caso, os ácidos graxos livres (AGLs) são submetidos à reação direta com um álcool de 4 carbonos ou menos, na presença de catalisadores ácidos. Mais recentemente o uso de diversos catalisadores heterogêneos tem sido descrito na literatura (DABDOUB, *et al.*, 2009). A produção de biodiesel pode ocorrer via catálise química, a partir de

triglicerídeos através de uma reação de hidrólise, catalisada por ácidos ou bases, seguida de transesterificação (HAYYAN, *et al.*, 2014).

Enzimas imobilizadas em diversos suportes são outros catalisadores que promovem a transesterificação e algumas vezes a esterificação, podendo ser recuperados e reutilizados. As vantagens e limitações de uso de enzimas têm servido de oportunidade para o desenvolvimento do uso de células – integrais como biocatalisadores na maioria das vezes imobilizadas (DABDOUB, *et al.*, 2009).

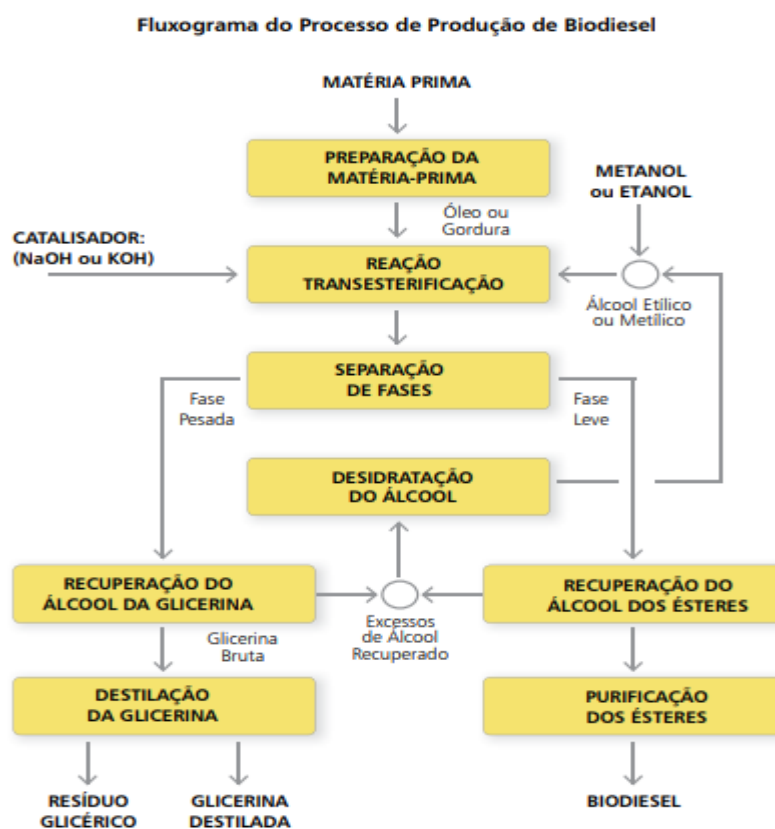
O possível uso de enzimas imobilizadas para a produção de biodiesel traz benefícios adicionais vantagens como:

- (i) fácil separação do catalisador, evitando maior contaminação do produto;
- (ii) reciclagem enzimática, reduzindo custos de produção;
- (iii) e aumento da estabilidade enzimática.

Além disso, através da catálise enzimática, é possível utilizar álcool hidratado como substrato, que não pode ser utilizado durante as reações de transesterificação química, diminuindo os custos de produção, uma vez que o álcool anidro é significativamente mais caro (BRADY, *et al.*, 2009).

Segundo Costa (2009), em uma planta de produção de biodiesel, são envolvidas diversas operações unitárias. Além da reação de transesterificação, recuperação e purificação dos subprodutos e produtos finais. A figura 4 representa um fluxograma de biodiesel em escala industrial, utilizando etanol ou metanol como fonte de álcool, e NaOH ou KOH e em seguida, na figura 5, tem um percentual de entradas e saídas desse processo de produção. Vale ressaltar que esses percentuais podem variar conforme a matéria-prima adotada no processo.

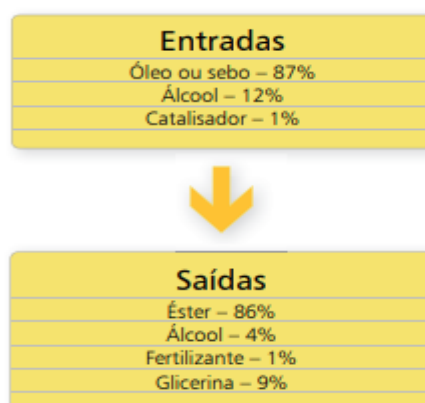
Figura 4: Fluxograma do processo de produção do biodiesel.



Fonte: Embrapa, (2016).

Figura 5: Percentual de entradas e saídas do processo de produção do biodiesel.

**Entradas e saídas do processo de produção de biodiesel\***



Fonte: Embrapa, (2016).

Os processos mais utilizados envolvem as etapas de transesterificação via catálise alcalina, processos contínuos com um ou dois reatores em série e as operações unitárias de separação, purificação e recuperação. Que utilizam reagentes com algumas características estabelecidas, a fonte de álcool deve ser anidra e preferencialmente de baixo peso molecular, as fontes de triacilglicerol com baixa acidez e baixa umidade. A reação deve ocorrer preferencialmente em pressão atmosférica e as temperaturas reacionais são próximas ao ponto de ebulição do álcool, com propósito de reduzir o tempo de reação (RINALDI *et. al.*, 2007).

### 3.3 MÉTODO DE OBTENÇÃO E PURIFICAÇÃO

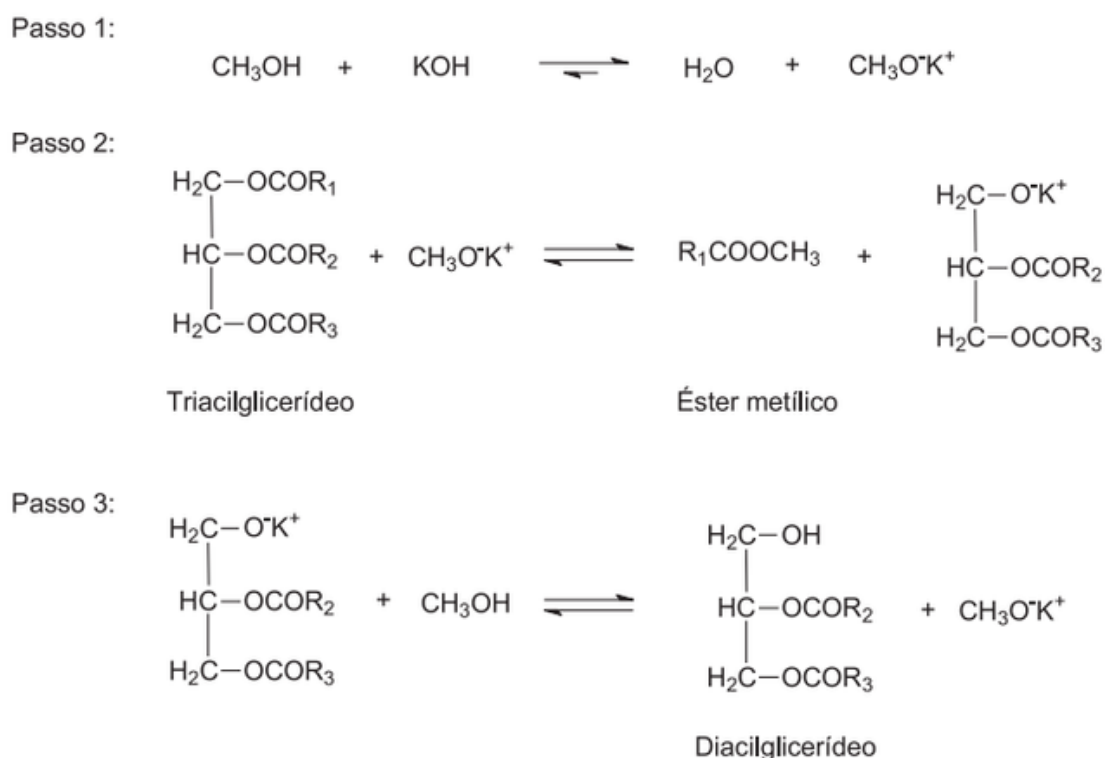
O biodiesel pode ser obtido através de uma reação química chamada de transesterificação, que de um modo geral é a reação de um triacilglicerol com um álcool de cadeia curta em presença de um catalisador, com isso produzindo um novo éster e subprodutos. A reação completa de transesterificação dos óleos e gorduras é composta por sequências de três reações reversíveis e consecutivas, em que os monoglicerídeos e diglicerídeos são os intermediários (DANTAS, 2006).

Em termos de combustível, a finalidade do processo de transesterificação visa diminuir a viscosidade do óleo, sendo uma forma mais econômica de transformar as cadeias ramificadas estrutural do óleo em moléculas menores, o que vai diminuir sua viscosidade e fazendo que a sua composição se assemelhe com a do diesel, possuindo então condições necessárias para a sua combustão em motor movido a diesel (DEMIRBAS, 2008).

Com relação aos catalisadores, a transesterificação pode ser realizada tanto em meio ácido quanto em meio básico. Este último promove um rendimento maior que o catalisador ácido, observando-se maior rendimento e seletividade, além de apresentar menores problemas relacionados à corrosão dos equipamentos. Os catalisadores básicos mais eficientes para esse propósito são o hidróxido de potássio (KOH) e hidróxido de sódio (NAOH), sendo o NAOH o mais utilizado por possuir um menor custo. Para aumentar o rendimento e permitir a formação de uma fase separada de glicerol, adiciona-se excesso de agente transesterificante (álcool primário de cadeia curta) de acordo com Costa Neto e colaboradores; a reação de

síntese geral empregada na figura 6, em nível industrial, utiliza uma razão molar de óleo: álcool de 1:6 ou superior, devido ao caráter reversível da reação. Também, para que resulte em uma transesterificação satisfatória, os óleos devem possuir baixo teor de ácidos graxos livres (FERRARI, *et al.*, 2005).

Figura6: Equações da reação de transesterificação de um triacilglicerídeo com metanol catalisado por hidróxido de potássio.



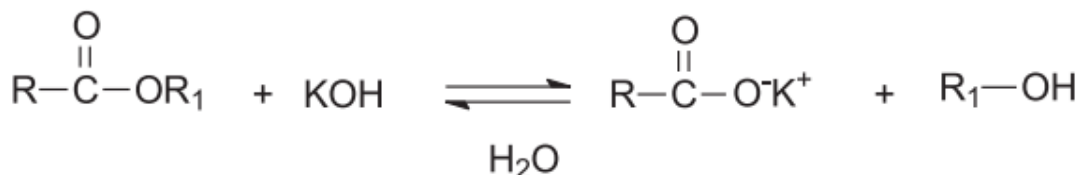
Fonte: GERIS, et al. (2007).

Vale destacar que a reação do hidróxido de potássio com o álcool leva à formação de água e, na presença do catalisador básico, poderá levar à hidrólise de algum éster produzido, com conseqüente formação de sabão (Figura 7). Essa saponificação indesejável reduz o rendimento do éster e dificulta consideravelmente a recuperação do glicerol, devido à formação de emulsão. Além disso, o consumo do catalisador reduz a eficiência da reação. Portanto, para uma transesterificação catalisada por bases, ambos os óleos e álcool devem ser isentos de água. Um baixo teor de ácidos graxos livres no óleo também é necessário se o processo de alcoólise ocorrer por catálise básica. Óleos vegetais que contenham alto teor de ácidos



graxos livres ou água devem ser processados via catálise ácida (GERIS, *et al.* 2007).

Figura7: Reação secundária da transesterificação: reação de saponificação.



Fonte: GERIS, *et al.*, (2007).

### 3.3.1 Catálise química

Catalisadores químicos são substâncias que aumentam a velocidade das reações. No caso da conversão de triglicerídeos em ésteres de ácidos graxos (biodiesel), a reação catalisada ocorre em curto período de tempo. No entanto, esse tipo de catalisador traz algumas desvantagens, como dificuldade de separação do meio e assim a impossibilidade de reutilização do catalisador, e conseqüente a obtenção de um produto com menor grau de pureza e necessidade de tratamento do grande volume de água utilizado devido à saponificação após a transesterificação e desta forma aumentando o custo de produção (GOLDEMBERG, *et al.*, 2010).

### 3.3.2 Catálise enzimática nos processos de obtenção do Biodiesel

Diferentemente dos catalisadores químicos convencionais, as enzimas são catalisadores de origem biológica altamente específica e, portanto, capazes de discriminar não somente as reações, como também os substratos (especificidade quanto ao tipo de substrato). As exigências atuais por processos industriais sustentáveis que contemplem os princípios da química verde, bem como as limitações existentes na obtenção de produtos ou intermediários específicos de importância industrial, têm tornado a tecnologia enzimática uma alternativa cada vez mais atrativa para a aplicação em diversos ramos industriais. Para contornar essa limitação, a comunidade científica direcionou seus estudos para dois focos: o

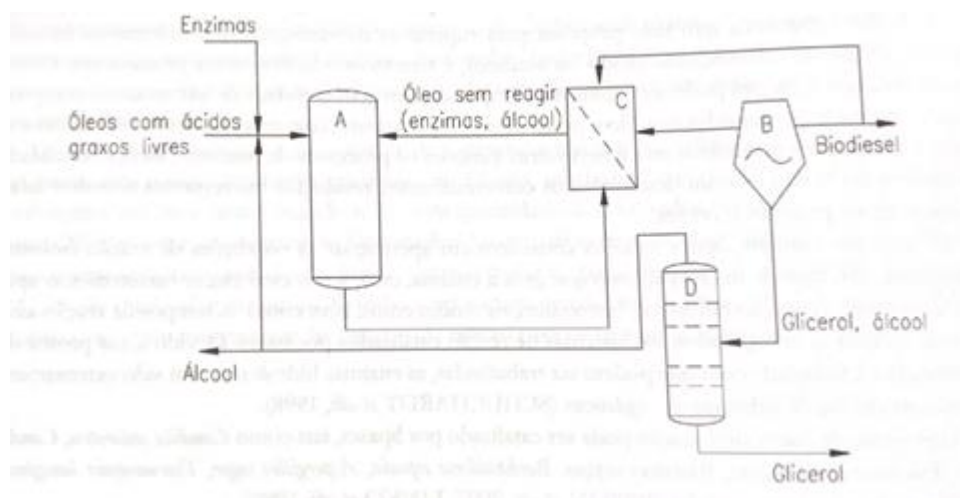
primeiro foi encontrar linhagens microbianas com potencial de produção e secreção das enzimas; o segundo foi desenvolver métodos de tornar a enzima imobilizada para posterior reutilização (SOUZA, *et al.*, 2017 *apud* Krajewska B, 2004.).

Imobilização é um termo genérico empregado para descrever a retenção de uma biomolécula no interior de um reator ou de um sistema analítico. No caso das enzimas, a imobilização consiste no confinamento da proteína em um suporte sólido insolúvel em meio aquoso e em solventes orgânicos, e pode ser usada isolada ou em combinação com outras técnicas de estabilização de proteínas, considerada uma das ferramentas mais eficientes para alterar a especificidade, seletividade, atividade e estabilidade das enzimas. Em comparação com as enzimas solúveis, as enzimas imobilizadas são mais robustas e mais resistentes a mudanças do ambiente reacional, incluindo influências de temperatura, pH e solventes orgânicos (SOUZA, *et al.*, 2017 *apud* MATEO, *et al.*, 2007).

O processo de transesterificação enzimática, de acordo com a figura 8, que consiste no processo de modificação lipídica catalisada pelas lipases, enzimas obtidas predominantemente de bactérias, leveduras e fungos, observe na tabela 4 as enzimas que já estão sendo estudadas e empregadas no processo de transesterificação. O processo, quando otimizado, oferece inúmeras vantagens em relação ao processo químico, pois permite maior controle sobre a distribuição posicional dos ácidos graxos no produto final devido à seletividade das lipases. As lipases são conhecidas por terem a propensão a atuar mais efetivamente em moléculas de cadeia carbônica longa (DABDOUB, *et al.*, 2009).

No processo enzimático certos problemas como a formação de sabão e neutralização pode ser reduzida, além da possibilidade de obter-se os produtos, glicerina e biodiesel, em maior grau de pureza, e possibilidade do reuso do biocatalisador. A utilização de enzimas na reação traz facilidade de separação do catalisador, possibilitando um maior grau de pureza e a possibilidade de reutilização das mesmas, menor temperatura de reação, de rendimento e seletividade para os produtos. Entretanto, observam-se alguns inconvenientes; são enzimas mais caras, tornando a substituição dos catalisadores químicos um grande desafio, e o tempo de reação é maior e com menor número de reutilização (glicerol).

Figura8: Esquema do processo de produção de biodiesel com enzimas.



Fonte: FJERBAEK *et al.*, (2009).

Tabela 4- Estudo da produção de biodiesel usando enzimas.

ENZIMA	OLEO/GORDURA	ALCOOL	FORMA	RENDIMENTO (%)
Candida Antarctica	Oliva	Metanol	Imobilizada	-
	Girassol	Metanol	Imobilizada	93,2
	Canola	Metanol	Imobilizada	-
	Sebo	Metanol	Imobilizada	74
Pseudomonas Fluorescens	Soja	Metanol	Livre	95
	Girassol	Isobutanol	Imobilizada	45,3
Pseudomonas Cepacia	Soja	Metanol	Livre	90
	Girassol	1-Butanol	Imobilizada	88,4
	Jatropha	Etanol	Imobilizada	98
	Mahua	Etanol	Imobilizada	>92
Candida Rugosa	Soja	Metanol	Livre	80-90
Rhizomucor Miehei	Girassol	Etanol	Imobilizada	79,1
Thermomyces Lanuginosa	Girassol	Metanol	Imobilizada	60
		1-Propanol		89,8
		2-Propanol		73
Candida sp.99-125	Colza	Metanol	Imobilizada	83
	Óleo de fritura			92
Pseudomonas Cepacia + Candida Antarctica	Gordura de Restaurante	Etanol	Imobilizada	96
Thermomyces Lanuginosa + Candida Antarctica	Colza e Óleo de fritura	Metanol	Imobilizada	95
Rhizopus Oryza + Candida Rugosa	Soja	Metanol	Imobilizada	99

Fonte: FJERBAEK, *et al.*, (2009).

#### 4 PERSPECTIVAS FUTURAS

Para que o processo enzimático seja viável, prefere-se que a lipase seja utilizada na forma imobilizada, que, ao contrário de sua contraparte solúvel, permite fácil reutilização da enzima e controle do processo. No entanto, a desativação, principalmente pelo álcool de cadeia curta, e a deposição do subproduto glicerol continuam sendo os obstáculos significativos para a reutilização efetiva da lipase.

Além disso, o uso de solvente orgânico é essencial quando a gordura animal for utilizada como matéria-prima para a produção de biodiesel. Essa matéria-prima tem um alto ponto de fusão que está próximo da temperatura de desnaturação da lipase e, portanto, deve ser dissolvida em um solvente. No entanto, o uso de solventes orgânicos não é recomendado no processamento de alimentos devido ao seu efeito nocivo. Além disso, unidades de separação de produtos e recuperação de solventes são inevitavelmente necessárias neste caso.

Isto pode ser afirmado porque, ao se analisar os processos completos usando os desenvolvimentos pontuais publicados, se observam desvantagens técnicas que se traduzem em inviabilidade (desvantagem) econômica.

De uma maneira resumida todas as vantagens vistas nas publicações estão sempre acompanhadas das mais diversas limitações. Assim podemos citar como exemplos, a realização da transesterificação em condições supercríticas (temperatura e pressão) que elimina a necessidade de catalisador, enquanto o uso de catalisadores heterogêneos facilita a recuperação e reutilização dos mesmos. Ambos os processos deixam os produtos mais fáceis de serem purificados. Entretanto, apresentam desvantagem quanto ao elevado consumo energética durante sua aplicação, pois requerem condições de alta temperatura e pressão. Além disso, no caso dos catalisadores enzimáticos, não há formação de sabões, a purificação do biodiesel e da glicerina é facilitada, pois não são contaminados com produtos químicos ácidos ou alcalinos, mas apresentam as desvantagens de longos tempos reacionais e na maioria das vezes transformações parciais, além dos elevados custos das enzimas (DABDOUB, *et al.*, 2009).

Portanto, estudos futuros deverão se basear na solução de problemas realmente encontrados pela indústria mais do que meramente no desenvolvimento pontual, com soluções que permitam, como, por exemplo, o desenvolvimento e a

aplicação de novos catalisadores que se aproximem daquilo que pode ser considerado um catalisador modelo, e sempre visando à sua eficiência global.

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho apresentou uma revisão de enzimas e leveduras para a produção de biodiesel. Foi possível observar que as enzimas lipases podem atuar como biocatalisadores em reações de transesterificação para a produção de biodiesel devido ao seu grande potencial catalítico e aplicabilidade com baixo custo, podendo ser disponíveis em diversos setores industriais.

Para que a substituição de processos químicos convencionais por tecnologia enzimática é necessário à continuidade de esforços científicos que proponham alternativas de redução de custo do processo, sobre tudo das enzimas e a utilização de enzimas imobilizadas com a possibilidade de reutilização, o que acaba tornando a tecnologia enzimática mais barata e mais competitiva.

## REFERÊNCIAS

- A.F. Hsu, K. Jones, W.N. Marmer, T.A. Foglia, J. Am. **Oil Chem. Soc.** 78 (1999) 585–588.
- A.F. Hsu, K. Jones, T.A. Foglia, W.N. Marmer, **Biotechnol. Appl. Biochem.** 36 (2002) 181–186
- BECKER, E; ***Microalgae biotechnology and microbiology***, Cambridge University Press: Cambridge, 1995.
- BECKER, J; Lange, A.; Fabário, J; Wittmann, C. **Produtos químicos de plataforma de alto valor agregado: produção de base biológica de ácidos orgânicos. atual Opinião. Biotecnologia.** 2015, 36, 168-175
- BERG, P; Boland A (2014) **Analysis of ultimate fossil fuel reserves and associated CO2 emissions in IPCC scenarios.** Nat Resour Res 23:141–158
- Biodiesel Standard; **Resolução ANP nº7**, Diário Oficial da União, Brasil, 2008, 20/3/2008.
- CASTRO, H. F.; Mendes, A. A.; Santos, J. C.; Aguiar, C. L. **MODIFICAÇÃO DE ÓLEOS E GORDURAS POR BIOTRANSFORMAÇÃO-** Quim. Nova 2004, 27, 146.
- CHEN, Y; Nielsen, J. **Produção de ácidos orgânicos de base biológica por microorganismos metabolicamente modificados.** atual Opinião. Biotecnologia. 2016, 37, 165-172.
- CORDEIRO, C. S.; Ramos, L. P. **Em Biodiesel in South America;** Knothe, G.; Krahl, J; Gerpen, J.V., eds; AOCS Press: Llinois, 2010, cap. 8.3.



COSTA, R. A. B. **Estudo das eficiências de Operações e consumo de Energia em Plantas de Biodiesel**. Dissertação( Mestrado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola Politécnica, Universidade São Paulo, São Paulo, 2009.

D. Zhu, Q. Wu, N. Wang, 3.02 - **Industrial Enzymes**, Editor: Murray Moo-Young, *Comprehensive Biotechnology (Second Edition)*, Academic Press, 2011, Pages 3-13.

DABDOUB M. J. et al.- **Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria**- *Química Nova*, v. 32, p. 776-792, 2009

DELGADO, M. M. et al. **Ciência & Tecnologia: FATEC-JB**, v. 1, 2010. Suplemento.

DEMIBRAS, A.; **Energ. Convers. Manage.** 2002, 43, 2349.

DU. W, Y.Y. Xu, D.H. Liu, Z.B. Li J. **Mol. Catal. B: Enzym.** 37 (2005) 68–71.

EMBRAPA - Plano Nacional de Agroenergia 2015- 2016/**Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Secretaria de Produção e Agroenergia**. 2. ed. rev. - Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2016, 110 p.

ESCOBAR, JC; Lora ES, Venturini OJ, Yanez EE, Castillo EF, Almazan O (2009) **Biofuels: environment, technology and food security**. *Renew Sustain Energy Rev* 13:1275–1287

FABER, K.; **Pure Appl. Chem.** 1997, 69, 1613. 9. Ke, T.; Klibanov A. M.; J. Am. Chem. Soc. 1999, 121, 3334.

FACIOLI, N. L.; Gonçalves, L. A. G. **Modificação por via enzimática da composição triglicéridica do óleo piqui (Caryocar brasiliense Camb)-** *Quim. Nova* 1998, 21, 16.

FERRARI,S; Almeida, P; Queiroz. **Propriedades termodinâmicas das sementes de pinhão-manso / Thermodynamic properties of seeds jatropa,**1 December 2017, Pages 149-162.

FJERBAEK, L, K.V. Christensen, B. Norddahl, **Biotechnol. Bioeng,** 2009.

FRIEDLINGSTEIN, P, Andrew R, Rogelj J, Peters G, Canadell J, Knutti R, Luderer G, Raupach M, Schaeffer M, van Vuuren D (2014) **Persistent growth of CO2 emissions and implications for reaching climate targets.** *Nat Geosci* 7:709–715.

GERIS, R. et al.- **BIODIESEL DE SOJA – REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO PARA AULAS PRÁTICAS DE QUÍMICA-** *Química Nova*, v. 30, p. 1369- 1373, 2007.

GOLDEMBERG, J.; GUARDABASSI, P., **Bioprod.Bioref**, v 1, p. 663-665, 2010.

HARING, D.; Schuler, E.; Scheirer, P.; **J. Mol. Cat. B: Enzym.** 1998, 5, 339.

HAYYAN, Maan; <sup>a</sup>Farouq S. Mjalli <sup>a</sup>Mohd Ali Hashim <sup>a</sup>Inas M. AlNashef <sup>b</sup>, **Tecnologia de Processamento de Combustível-** Volume 91, Edição 1 , Janeiro de 2010 , Páginas 116-120.

JACKSON, CJ; Gillam, EMJ; Ollis, DL **Directed Evolution of Enzymes. Em Produtos Naturais Abrangentes**, Vol. ii, Lew, M., Hung-Wen, L., Eds.; Elsevier: Oxford, 2010;

JACKSON.K;Magrini; J. Olstad; B. Peterson; Y. Pai; C. Mukarakate; K. Iisa; E. Christen;sen R. Seiser, **Impacto da matéria-prima e do catalisador na produção de bio-óleo e co-processamento FCC para combustíveis**, Elsevier, 2010.

JANG, Y, Kim B, Shin JH, Choi YJ, Choi S, Song CW, Lee J, Park HG, Lee SY- **Bio-based production of C2–C6 platform chemicals. Biotechnol Bioeng** (2012), pag:109:2437–2459.

JONES, J. B.; Desantis, G.; **Acc. Chem. Res.** 1999, 32, 99.

KNOTHE, G, JV Gerpen, J. Krahl (Eds.), **The Biodiesel Handbook**, AOCS Press, Illinois, 2005, pp. 4–16.

KRAJEWSKA B. **Application of chitin- and chitosan-based materials for enzyme immobilizations: a review. Enzyme Microb Technol.** 2004;35(2-3):126-39.

KRIVORUCHKO, A, Siewers V, Nielsen J (2011) **Opportunities for yeast metabolic engineering: lessons from synthetic biology. Biotechnol J** 6:262–276.

MANECKE, G. **Immobilization of enzymes by various synthetic polymers. Biotechnol Bioeng Symp.** 1972;3:185-7.

MATEO, C; Palomo, JM; Fernandez-Lorente, G; Guisan JM, Fernandez-Lafuente R. **Improvement of enzyme activity, stability and selectivity via immobilization techniques- Enzyme Microb Technol.** 2007; 40(6):1451-63.

McMURRY, J. **Química Orgânica. 7. ed.** São Paulo: Cengage Learning, 2012. Vol 1, 688 p.

MEHER, L. C.; Sagar, D. V.; Naik, S. N.; **Renew. Sustain. Energy Rev.** 2004, 10, 248.

MENEGHETTI, S. M. P. et al. **Revista Virtual de Química**, v. 5, p. 63-73, 2013.

MERÇON, Fábio. **O que é uma gordura trans**. Química nova na escola. Vol. 32, nº 2, 2010.

**Ministério Minas e Energia, Brasília.** Disponível em [http://www.mme.gov.br/web/guest/paginainicial/outras-noticias/asset\\_publisher/32hLrOzMKwWb/content/cnpe-definiregras-para-as-misturas-de-biodiesel-b7-e-b8](http://www.mme.gov.br/web/guest/paginainicial/outras-noticias/asset_publisher/32hLrOzMKwWb/content/cnpe-definiregras-para-as-misturas-de-biodiesel-b7-e-b8).

MOURA, B. S. **Transesterificação alcalina de óleos vegetais para produção de biodiesel: avaliação técnica e econômica**. 146f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química). Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Seropédica, Rio de Janeiro, 2010.

RABELO, I. D.; **Dissertação de Mestrado, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Brasil, 2001.**

RAMOS, L. P.; Wilhelm, H. M. **Appl. Biochem. Biotechnol.** 2005, 121, 807.

REETZ, MT.; Krebs, G. P. L.; C. R. **Evolução dirigida de enzimas enantiosseletivas: uma abordagem não convencional para catálise assimétrica em química orgânica**; 2011, 14, 811.

RESENDE, Osvaldo; Oliveira, Daniel Emanuel Cabral de; Chaves, Tarcísio Honório; Souza, Kelly Aparecida; Smaniotto, Thaís Adriana de Souza, **Uma**

**nova técnica para separar glicerina de biodiesel à base de óleo de palma usando líquidos iônicos, 2014.**

RINALDI, R.; GARCIA, C. et. Al. **SÍNTESE DE BIODIESEL: UMA PROPOSTA CONTEXTUALIZADA DE EXPERIMENTO PARA LABORATÓRIO DE QUÍMICA GERAL-** Química Nova, São Paulo, v. 30, p. 1374-1380, 2007.

RODRIGUES, R. C. **Síntese de Biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisados por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual.** 183 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química), Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

ROESSLER, P. G.; Brown, L. M.; Dunahay, T. G.; Heacox, D. A.; Jarvis, E. E.; Schneider, J. C.; Talbot S. G.; Zeiler K. G. **Em Genetic-engineering Approaches for Enhanced Production of Biodiesel Fuel from Microalgae;** ACS Symposium Series 566.; American Chemical Society: Washington DC, 1994, cap. 13.

S. Al-Zuhair, **Biotechnol. Prog.** 21 (2005) 1442–1448.

SHAN. S, S. Sharma, M.N. Gupta, **Energy Fuels** 18 (2004) 154–159.

**Sítio da Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).** Disponível em. Acesso em: 1 Junho 2022.

**Sítio da Organização das Nações Unidas (ONU).** Disponível em . Acesso em: 11 maio 2022.

SOARES, B. G.; Souza, N. A.; Pires, D. X.; **Química Orgânica: Teoria e Técnicas de Preparação, Purificação e Identificação de Compostos Orgânicos**, Ed. Guanabara: Rio de Janeiro, 1988.

SOUZA, Livia Tereza de Andrade; VERÍSSIMO, Lizzy Ayra Alcântara; JOÃO, Benevides Costa Pessela; SANTORO, Marcelo Matos; RESENDE, Rodrigo R.; MENDES, Adriano A.; **"Imobilização enzimática: princípios fundamentais e tipos de suporte"**, p. 529 -568.- Vol. 4. São Paulo: Blucher, 2017.

TAKASAK, Y, Kosugi Y, Kanbayashi A. **Fermentation Advances**. Perlman D, editor. New York: Academic Press; 1969.

TAPANES, N. L. C. et al. **Acta Scientiae & Technicae**, v.1, p. 119-125, 2013.

WOODLEY, JM **Engenharia de proteínas de enzimas para aplicações de processo. atual Opinião. Química Biol.** 2017, 17, 310-316.

XIONG, W.; Gao, C.; Yan, D.; Wu, C.; Wu, Q.; **Bioresour. Technol.** 2010, 101, 2287.

ZHANG, C.; Wu, Z.; Zhu, Y.; Huang, W.; Li, T.; Zhang, Y.; Li, A.; **Bioresour. Technol.** 2012, 110, 496.