



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E TECNOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**COPRODUÇÃO DE BIODIESEL E TRIACETINA POR INTERESTERIFICAÇÃO
ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE BABAÇU COM ACETATO DE ETILA**

CAMILA SANTOS DO NASCIMENTO

SÃO CARLOS - SP
2025

CAMILA SANTOS DO NASCIMENTO

**COPRODUÇÃO DE BIODIESEL E TRIACETINA POR INTERESTERIFICAÇÃO
ENZIMÁTICA DE ÓLEO DE BABAÇU COM ACETATO DE ETILA**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, da Universidade Federal de São Carlos, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Química, área de concentração Pesquisa e Desenvolvimento de Processos Químicos.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Waldir Tardioli

São Carlos - SP
2025

Nascimento, Camila Santos do

Coprodução de biodiesel e triacetina por
interesterificação enzimática de óleo de babaçu com
acetato de etila / Camila Santos do Nascimento -- 2025.
85f.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de São
Carlos, campus São Carlos, São Carlos

Orientador (a): Paulo Waldir Tardioli

Banca Examinadora: José Renato Guimarães, Thais

Suzane Milessi Esteves

Bibliografia

1. Biodiesel. 2. Triacetina. 3. Óleo de babaçu. I.
Nascimento, Camila Santos do. II. Título.

Ficha catalográfica desenvolvida pela Secretaria Geral de Informática
(SIn)

DADOS FORNECIDOS PELO AUTOR

Bibliotecário responsável: Arildo Martins - CRB/8 7180



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO CARLOS

Centro de Ciências Exatas e de Tecnologia
Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química

Folha de Aprovação

Defesa de Dissertação de Mestrado da candidata Camila Santos do Nascimento, realizada em 19/12/2025.

Comissão Julgadora:

Prof. Dr. Paulo Waldir Tardioli (UFSCar)

Prof. Dr. José Renato Guimarães (UNIFEI)

Profa. Dra. Thais Suzane Milessi Esteves (UFSCar)

O Relatório de Defesa assinado pelos membros da Comissão Julgadora encontra-se arquivado junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, que sempre se esforçaram para me proporcionar o melhor; à minha irmã, minha maior inspiração; e ao meu marido, Rafael, pelo apoio incondicional ao longo desses anos que estamos juntos.

AGRADECIMENTO

Em primeiro lugar, agradeço a Deus, pois acredito que tudo só acontece com Sua permissão.

Aos meus familiares, em especial aos meus pais, Rosângela e Samuel, à minha irmã Carolina e ao meu marido Rafael, pois são a minha base e me incentivam a ser melhor a cada dia.

Ao Prof. Dr. Paulo Waldir Tardioli, pela orientação, por todo ensinamento e pelo comprometimento com este trabalho.

Ao meu amigo Leonardo, pelo apoio e pela parceria no laboratório; aos colegas Laiane e Hatus, pela colaboração ao longo da pesquisa; à técnica Thais, pelo auxílio e treinamento no uso dos equipamentos essenciais ao desenvolvimento deste projeto e aos colegas e professores do PPGEQ-UFSCar, pelo convívio, pela amizade e pelas contribuições que enriqueceram meu crescimento pessoal e intelectual.

APOIO FINANCEIRO

O presente trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001), da Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) e do Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação (MCTI), por meio do Programa de Recursos Humanos da ANP para o Setor de Biocombustíveis (PRH-ANP/MCTI), da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP – Processo nº 2024/11355-9) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq –Processo nº 174869/2024-0).

RESUMO

A crescente demanda por energia e os impactos ambientais associados ao uso intensivo de combustíveis fósseis impulsionam a busca por rotas mais sustentáveis para a produção de biocombustíveis. Neste contexto, o biodiesel destaca-se como alternativa renovável, especialmente no Brasil, onde sua adição ao diesel fóssil é obrigatória e atualmente corresponde a 15% em volume. A rota convencional de produção de biodiesel, baseada na transesterificação química de óleos vegetais com álcoois de cadeia curta, gera grandes quantidades de glicerol de baixo valor agregado, além de demandar etapas adicionais de purificação. Como alternativa, este trabalho investigou a coprodução de triacetina e biodiesel por meio da interesterificação enzimática do óleo de babaçu com acetato de etila, um reagente mais sustentável e compatível com a catálise enzimática. O processo foi conduzido utilizando a lipase comercial Eversa® Transform 2.0, previamente imobilizada em suporte hidrofóbico Purolite® C18, visando à maior estabilidade e à possibilidade de reutilização do biocatalisador. Inicialmente, o óleo de babaçu foi caracterizado quanto às suas propriedades físico-químicas e composição em ácidos graxos. Em seguida, um planejamento experimental do tipo Delineamento Composto Central Rotacional foi empregado para avaliar os efeitos da temperatura e da razão molar óleo:acetato de etila sobre o rendimento em ésteres de ácidos graxos (FAEEs). As condições ótimas foram validadas em reator agitado com aquecimento convencional, e o efeito da carga enzimática e do modo de adição do acetato de etila foi investigado. Nas condições ótimas: 15% de carga enzimática (base mássica em relação ao óleo), adição gradual de acetato de etila, temperatura de 38 °C e 72 h de reação, o sistema com aquecimento convencional apresentou rendimentos de 53,83% em FAEEs e 2,10% em triacetina. A aplicação de aquecimento por micro-ondas permitiu alcançar rendimentos comparáveis em tempo significativamente reduzido, obtendo-se 57,58% de FAEEs e 3,53% de triacetina em apenas 6 h de reação. Os resultados demonstram o potencial da interesterificação enzimática do óleo de babaçu com acetato de etila como uma rota alternativa e mais sustentável para a produção de biodiesel, aliada à geração de triacetina como coproduto de maior valor agregado, além de evidenciar as vantagens do uso de aquecimento por micro-ondas na intensificação do processo.

Palavras-chaves: biodiesel; triacetina; interesterificação enzimática; óleo de babaçu; Eversa® Transform 2.0.

ABSTRACT

The growing global demand for energy and the environmental impacts associated with the intensive use of fossil fuels have driven the search for more sustainable routes for biofuel production. In this context, biodiesel stands out as a renewable alternative, particularly in Brazil, where its blending with fossil diesel is mandatory and currently corresponds to 15% (v/v). The conventional production route, based on chemical transesterification, generates large amounts of low-value glycerol and requires additional purification steps. As an alternative, this study investigated the co-production of biodiesel and triacetin through the enzymatic interesterification of babassu oil with ethyl acetate, a more sustainable reagent and compatible with enzymatic catalysis. The process was carried out using the commercial lipase Eversa[®] Transform 2.0, previously immobilized on a hydrophobic Purolite[®] C18 support to enhance biocatalyst stability and enable reuse. Initially, babassu oil was characterized in terms of its physicochemical properties and fatty acid composition. Subsequently, a Central Composite Rotational Design was applied to evaluate the effects of temperature and the oil-to-ethyl acetate molar ratio on the yield of fatty acid ethyl esters (FAEEs). The optimal conditions were validated in a mechanically stirred reactor with conventional heating, and the effects of enzyme loading and ethyl acetate addition mode were investigated. Under the optimized conditions: 15% enzyme loading (w/w relative to the oil), gradual addition of ethyl acetate, a temperature of 38 °C, and 72 h of reaction, the system with conventional heating achieved yields of 53.83% FAEEs and 2.10% triacetin. The application of microwave-assisted heating enabled comparable yields in a significantly shorter reaction time, reaching 57.58% FAEEs and 3.53% triacetin in only 6 h. These results demonstrate the potential of the enzymatic interesterification of babassu oil with ethyl acetate as a more sustainable alternative route for biodiesel production, combined with the generation of triacetin as a higher value-added coproduct, and highlight the advantages of microwave heating for process intensification.

Keywords: biodiesel; triacetin; enzymatic interesterification; babassu oil; Eversa[®] Transform 2.0.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Concentrações dos GEEs de 1850 a 2019.	19
Figura 2. Reação de transesterificação para produção de biodiesel	24
Figura 3. Reação de interesterificação por meio de acetato de etila.	25
Figura 4. Efeito do catalisador sobre a energia de ativação da reação	28
Figura 5. Perfil de velocidade inicial de hidrólise de tributirina ($\mu\text{mol}/\text{min}$) catalisada pela Eversa® Transform 2.0, a 37°C e pH 7,5, em função do volume de enzima (mL)	48
Figura 6. Perfil de velocidade inicial de hidrólise de tributirina ($\mu\text{mol}/\text{min}$) catalisada pela lipase B de <i>Candida antarctica</i> (CALB), a 37°C e pH 7,5, em função do volume de enzima (mL)	49
Figura 7. Perfil de imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), razão suporte/solução enzimática de 1:10 (m/v), carga proteica oferecida de 20 mg/g de suporte. (■) Atividade enzimática e (■) concentração de proteínas do sobrenadante da imobilização	54
Figura 8. Perfil de imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), razão suporte/solução enzimática de 1:10 (m/v), carga proteica oferecida de 1 mg/g de suporte. (■) Atividade enzimática e (■) concentração de proteínas do sobrenadante da imobilização	54
Figura 9. Gráfico de Pareto dos efeitos estatisticamente significativos do DCCR para o rendimento de FAEEs	58
Figura 10. Correlação entre os valores experimentais e os valores preditos pelo modelo para o rendimento de FAEEs	59
Figura 11. Superfícies de resposta do rendimento de FAEEs em função da razão molar e da temperatura	60
Figura 12. Efeito da carga enzimática ((■) 5, (●) 10 e (▲) 15 %, massa de enzima/massa de óleo de babaçu) na interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila a 38°C, catalisada por Eversa® imobilizada em Purolite® C18, ao longo do tempo em reator agitado e aquecimento convencional (adição gradual de acetato de etila até razão molar óleo/acetato de 1:50)	62
Figura 13. Efeito da carga enzimática ((■) 5, (●) 10 e (▲) 15 %, massa de enzima/massa de óleo de babaçu) na interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila a 38°C, catalisada por Eversa® imobilizada em Purolite® C18, ao longo do tempo em reator agitado e aquecimento convencional (adição única de acetato de etila, razão molar óleo/acetato de 1:50)	64

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características físico-químicas do óleo de babaçu.	35
Tabela 2. Composição em ácidos graxos do óleo de babaçu.	35
Tabela 3. Levantamento de publicações na base Scopus relacionadas a biodiesel, óleo de babaçu e triacetina	36
Tabela 4. Trabalhos reportados na literatura sobre a produção de biodiesel por interesterificação utilizando acetatos de cadeia curta	37
Tabela 5. Níveis reais e codificados das variáveis estudadas no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).....	44
Tabela 6. Concentração de proteínas da Eversa® Transform 2.0 determinada pelo método de Bradford.....	50
Tabela 7. Concentração de proteínas da lipase B de Candida antarctica (CALB) determinada pelo método de Bradford.....	50
Tabela 8. Propriedades físico-químicas do óleo de babaçu.....	51
Tabela 9. Composição de ácidos graxos do óleo de babaçu	51
Tabela 10. Concentração de triacetina após 48 h de reação entre glicerol e acetato de etila (razão molar 1:3), a 37°C e 250 rpm, em agitador do tipo shaker	53
Tabela 11. Resultados da imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), para cargas oferecidas de 20 e 1 mg de proteína por grama de suporte.....	55
Tabela 12. Valores codificados (x_1 e x_2) e reais (X_1 e X_2) para as variáveis estudadas no planejamento experimental e as respostas em rendimento de FAEEs (Y)	57
Tabela 13. ANOVA do planejamento experimental DCCR para o rendimento de ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs)	59
Tabela 14. Rendimentos da interesterificação de óleo de babaçu e acetato de etila catalisada por Eversa® imobilizada em Purolite® C18 em reatores agitados e diferentes modos de aquecimento	66

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANP – Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis

AOCS – *American Oil Chemists' Society*

ASTM – *American Society for Testing and Materials*

CALB – lipase B de *Candida antarctica*

CNPE - Conselho Nacional de Política Energética

COP - Conferência das Nações Unidas sobre Mudanças Climáticas

COPPALJ – Cooperativa dos Pequenos Produtores Agroextrativistas do Lago do Junco

DCCR – Delineamento Composto Central Rotacional

FAEES – Ésteres Etílicos de Ácidos Graxos

GEE – Gases do Efeito Estufa

HPLC – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

IBP – Instituto Brasileiro de Petróleo e Gás

IEA - International Energy Agency

IPCC - Intergovernmental Panel On Climate Change

ISPN – Instituto Sociedade, População e Natureza

IUPAC – *International Union of Pure and Applied Chemistry*

MDL - Mecanismo de Desenvolvimento Limpo

PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel

RenovaBio - Política Nacional de Biocombustíveis

SCS - Selo Combustível Social

TBU – Unidade de hidrólise de tributirina

UNFCCC - United Nations Framework Convention On Climate Change

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	13
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	17
2.1	Contexto Energético.....	17
2.1.1	<i>Panorama das matrizes energéticas.....</i>	17
2.1.2	<i>Impactos dos combustíveis fósseis.....</i>	18
2.1.3	<i>Comparação entre biodiesel e diesel.....</i>	20
2.2	Processos de obtenção de biodiesel.....	23
2.2.1	<i>Reação de transesterificação: glicerol como coproduto.....</i>	23
2.2.2	<i>Reação de interesterificação: triacetina como coproduto</i>	25
2.3	Biocatálise aplicada ao biodiesel	27
2.3.1	<i>Introdução às lipases como catalisadores</i>	27
2.3.2	<i>Enzimas livres vs. imobilizadas.....</i>	29
2.3.3	<i>Eversa® Transform 2.0 e Lipase B de Candida antarctica (CALB)</i>	32
2.4	Óleo de babaçu	33
2.5	Reator por irradiação de micro-ondas	38
3	MATERIAIS E MÉTODOS	40
3.1	Materiais.....	40
3.2	Métodos	40
3.2.1	<i>Concentração de proteínas.....</i>	40
3.2.2	<i>Atividade enzimática</i>	41
3.2.3	<i>Caracterização do óleo de babaçu</i>	41
3.2.4	<i>Preparo do suporte Purolite® e imobilização enzimática.....</i>	42
3.2.5	<i>Reação de glicerólise entre glicerol e acetato de etila.....</i>	43
3.2.6	<i>Planejamento Experimental</i>	44
3.2.7	<i>Reação de interesterificação em reator convencional e micro-ondas..</i>	45
3.2.8	<i>Caracterização dos ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs).....</i>	46
3.2.9	<i>Quantificação da triacetina</i>	46
4	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	48
4.1	Caracterização das enzimas	48
4.2	Caracterização do óleo de babaçu.....	50
4.3	Rendimento de triacetina a partir da glicerólise com acetato de etila	52
4.4	Imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0.....	53
4.5	Análise estatística e determinação da temperatura ideal	56

4.6	Reação de interesterificação de óleo de babaçu com acetato de etila em reator com agitação do tipo fluxo em vórtice e aquecimento convencional	61
4.7	Rendimentos da reação de interesterificação de óleo de babaçu e acetato de etila	65
5	CONCLUSÃO	67
6	REFERÊNCIAS	69

1 INTRODUÇÃO

O panorama mundial do sistema energético mudou significativamente nos últimos 50 anos. Após a crise do petróleo na década de 1970, novas fontes de energia passaram a ser exploradas. Além disso, eventos climáticos extremos e o aumento contínuo das temperaturas médias globais intensificaram o incentivo à transição para fontes energéticas mais limpas, uma vez que o setor de energia é o principal responsável pela poluição atmosférica em escala mundial (ENERGY INSTITUTE, 2025). Como consequência, os investimentos globais em energia limpa aumentaram cerca de 40% desde 2020. No caso dos biocombustíveis, a produção líquida aumentou aproximadamente 5% em 2022 e vem apresentando um crescimento médio anual de 4% (INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA), 2023).

No Brasil, a produção de biodiesel ultrapassou 9 milhões de m³ em 2024, em contraste com apenas 736 m³ produzidos em 2005 (AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP), 2025). Esse crescimento está diretamente associado à obrigatoriedade estabelecida pela Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, que determinou a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, inicialmente com um percentual mínimo de 5% (v/v) ao óleo diesel comercializado. Atualmente, essa proporção corresponde a 15%, em vigor desde agosto de 2025 (ANP, 2025), o que pode resultar em uma produção anual de mais de 10 bilhões de litros (FORBES, 2025).

O processo mais empregado para a produção do biodiesel baseia-se na transesterificação de triglicerídeos utilizando catalisadores químicos na presença de álcoois de cadeia curta, como metanol ou etanol (MARCHETTI; MIGUEL; ERRAZU, 2007; YUSURF; KAMARUDIN; YAAKUB, 2011). No entanto, a catálise enzimática tem ganhado destaque por oferecer vantagens ambientais e operacionais, tais como condições reacionais mais brandas, maior seletividade e menor geração de resíduos (JEGANNATHAN et al., 2008; XUEBING et al., 2015). Nesse contexto, o uso de metanol, apesar do baixo custo, apresenta limitações devido à sua toxicidade e ao potencial de inativação da enzima. O etanol, por sua vez, embora mais caro, é proveniente

de fontes renováveis e apresenta menor toxicidade, preservando a atividade enzimática e conferindo maior sustentabilidade ao processo (LOTTI et al., 2015; MIRANDA et al., 2025).

Além disso, na transesterificação convencional, o principal coproduto formado é o glicerol, cuja purificação envolve custos elevados e, frequentemente, não é economicamente viável para aplicações que demandam alta pureza (MARX, 2016). O aumento expressivo da produção mundial de biodiesel também levou a um excedente de glicerol no mercado, reduzindo significativamente seu valor comercial (USAI et al., 2010). Nesse cenário, torna-se relevante o estudo de rotas alternativas que permitam a valorização de coprodutos e a eliminação das etapas onerosas de separação e purificação.

A interesterificação enzimática com ésteres de cadeia curta surge como uma alternativa promissora, uma vez que permite a formação de ésteres de glicerol solúveis em biodiesel, como a triacetina, que atuam como bioaditivos capazes de melhorar as propriedades do biocombustível, especialmente em baixas temperaturas. Adicionalmente, a substituição de álcoois por acetatos em bioprocessos não compromete a estabilidade enzimática, favorecendo a viabilidade do processo (USAI et al., 2010; SENDZIKIENE; MAKAREVICIENE, 2022).

A rota enzimática também possibilita o uso de matérias-primas com elevado teor de ácidos graxos livres sem necessidade de pré-tratamento, diferentemente da catálise alcalina convencional, que é suscetível à formação de sabões por saponificação (KUSUMANINGTYAS et al., 2022). Embora as enzimas na forma livre apresentem menor custo inicial, sua recuperação e reutilização são limitadas em escala industrial (MONTEIRO et al., 2021). Em contrapartida, enzimas imobilizadas, apesar do maior custo, oferecem melhor desempenho global do processo (DICOSIMO et al., 2013; NIGAM et al., 2014).

A seleção da matéria-prima na produção de biodiesel por rota enzimática é um ponto-chave, uma vez que o perfil de ácidos graxos pode influenciar tanto o desempenho do processo quanto as propriedades finais do biocombustível. Nesse contexto, o óleo de babaçu tem despertado crescente interesse como matéria-prima para a produção de biodiesel e derivados, devido à sua composição favorável em ácidos graxos e à sua relevância

socioeconômica no Brasil (JÚNIOR et. al, 2023; MELO et al., 2024; PRIEBE et al., 2024; CAVALCANTI et al., 2025). Um dos fatores que impulsionam esse avanço é o Programa “Selo Biocombustível Social”, instituído pelo governo federal em 2004 e atualizado pela última vez em 2021, que incentiva a participação de agricultores familiares no mercado de biocombustíveis (MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO E AGRICULTURA FAMILIAR, 2023).

Apesar dos avanços relatados na literatura, ainda são escassos os estudos que abordam a interesterificação enzimática do óleo de babaçu com acetato de etila visando à coprodução de biodiesel e triacetina, especialmente quando associada a estratégias de intensificação do processo. Nesse sentido, o uso do aquecimento por micro-ondas surge como uma alternativa promissora, uma vez que promove aquecimento volumétrico mais rápido e homogêneo, podendo reduzir significativamente o tempo reacional sem comprometer a atividade do biocatalisador.

Dessa forma, o presente trabalho propõe o desenvolvimento e a otimização de um processo de coprodução de biodiesel e triacetina por meio da interesterificação enzimática do óleo de babaçu fornecido pela Cooperativa dos Pequenos Produtores Agroextrativistas do Lago do Junco (COPPALJ), instituição que apoia famílias e comunidades na superação da pobreza por meio de capacitação e geração de renda, promovendo condições de vida mais dignas e saudáveis (COPPALJ, s.d), utilizando acetato de etila como reagente. O desempenho do processo foi avaliado considerando diferentes estratégias de intensificação, com destaque para a comparação entre o aquecimento convencional e o aquecimento por micro-ondas, bem como o efeito da forma de adição do acetato de etila ao meio reacional, com o intuito de reduzir o tempo de reação, preservar a atividade do biocatalisador e maximizar os rendimentos em ésteres etílicos de ácidos graxos e triacetina.

Objetivo Geral

Desenvolver e otimizar um processo de coprodução de biodiesel e triacetina por meio da interesterificação enzimática do óleo de babaçu, utilizando acetato de etila como reagente, avaliando o desempenho do processo em diferentes sistemas de reação e estratégias de intensificação.

Objetivos específicos

- Caracterizar o óleo de babaçu por meio da determinação dos índices de acidez, saponificação e iodo, bem como da viscosidade, densidade, teor de umidade, massa molar média e composição em ácidos graxos;
- Selecionar lipases adequadas para a reação de interesterificação, avaliando o desempenho da Eversa[®] Transform 2.0 e da lipase B de *Candida antarctica* (CALB);
- Otimizar o processo de interesterificação por meio de planejamento experimental, avaliando o efeito das variáveis temperatura e razão molar óleo:acetato de etila;
- Validar as condições ótimas de reação em reator agitado mecanicamente, com aquecimento convencional por camisa com circulação de água;
- Determinar a carga enzimática ideal para maximizar o desempenho do processo;
- Comparar os rendimentos obtidos no reator com aquecimento convencional e com aquecimento induzido por micro-ondas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Contexto Energético

2.1.1 Panorama das matrizes energéticas

Apesar dos avanços globais em direção à transição energética, os combustíveis fósseis ainda são a principal fonte de energia, representando 87% da matriz energética mundial. Esse cenário é consequência do contínuo desenvolvimento econômico, que tem elevado, anualmente, a demanda por energia. Em 2024, o mundo registrou um acréscimo de 2% no consumo energético, alcançando o valor recorde de $5,93 \times 10^{20}$ J. Por consequência, também houve um recorde nas emissões de CO₂, que totalizaram 40,8 gigatoneladas. (ENERGY INSTITUTE, 2025).

Entretanto, desde o início do século XXI, as energias renováveis têm taxas de crescimento maiores que as outras fontes de energia (petróleo, gás, carvão, nuclear e hidrelétrica). No último ano, houve um aumento de 7% da demanda por energias renováveis e nos últimos 15 anos, o mundo já evitou a emissão de mais de 100 bilhões de toneladas de Gases do Efeito Estufa (GEE) (ENERGY INSTITUTE, 2025).

No cenário brasileiro, de acordo com a IEA (2024), do consumo final de energia, 43% é proveniente do petróleo e 30% de biocombustíveis e resíduos, sendo o setor de transporte responsável por 37% do consumo total. A elevada participação desse setor se dá pela grande extensão territorial do Brasil e pela forte dependência do meio rodoviário, no qual predomina o uso de caminhões e ônibus movidos a diesel (AGÊNCIA DE NOTÍCIAS DA INDÚSTRIA, 2024).

O Brasil se destaca entre os dez maiores produtores de petróleo do mundo, responsável por aproximadamente 4% da produção global, com cerca de 3,4 milhões de barris por dia, além de registrar um aumento de 935% nas exportações entre 2000 e 2023 (INSTITUTO BRASILEIRO DE PETRÓLEO E GÁS (IBP), 2025). As energias renováveis são produzidas majoritariamente para geração de eletricidade e o Brasil possui uma das matrizes mais limpas do mundo, com cerca de 80% da energia doméstica proveniente de hidrelétricas (IEA, 2024). Quanto aos biocombustíveis, ocupa a segunda

posição mundial em produção, considerando o etanol e o biodiesel. O setor industrial é o principal consumidor, responsável por 55% do total, seguido pelo setor de transportes, com 28% (EXAME, 2024).

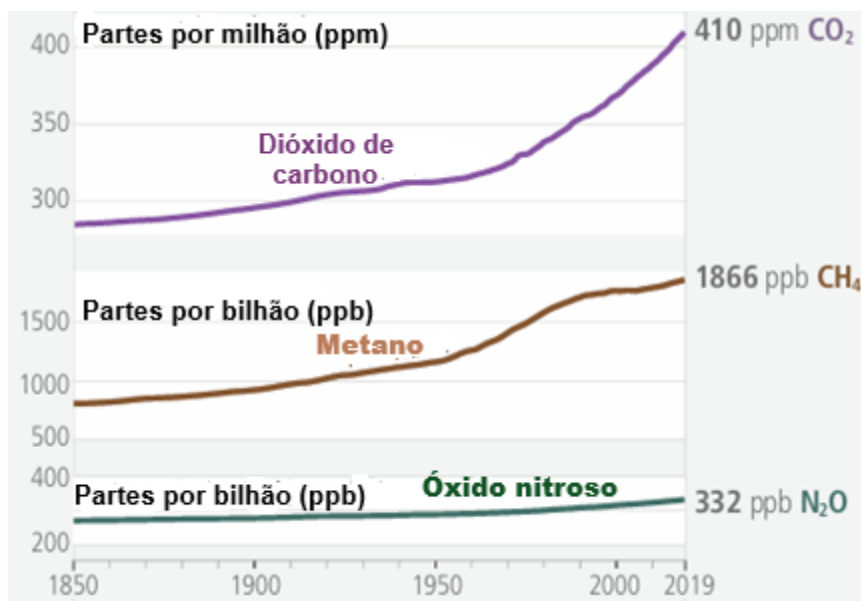
2.1.2 Impactos dos combustíveis fósseis

As emissões de carbono ocorrem naturalmente como parte do ciclo do carbono, contribuindo para o equilíbrio do planeta. Essas emissões provêm de oceanos, vegetação, animais e da decomposição de matéria orgânica, por exemplo. No entanto, a atividade humana provocou um desequilíbrio ambiental, adicionando quantidades significativas de carbono na atmosfera (CRESPO; SOUZA; DA SILVA, 2023). Somente entre 2014 e 2023, foram emitidas 10,8 bilhões de toneladas de carbono na forma de CO₂, composto considerado o principal responsável pelo aquecimento global (MCKINLEY OCEAN CARBON GROUP, 2025).

Além do CO₂, outros gases também contribuem para o efeito estufa, como o metano (CH₄), o óxido nitroso (N₂O) e os gases fluorados (INTERGORVENMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC), 2023). Como os combustíveis fósseis são a principal fonte de energia no mundo, a grande preocupação está ligada às emissões de GEE liberadas em sua queima, que afetam não só os maiores países emissores, mas todo o planeta, aumentando de forma significativa o aquecimento global (UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE (UNFCCC), 2023.)

A Figura 1 ilustra o aumento das concentrações de GEE desde 1850, impulsionado pelas atividades humanas e pelo desenvolvimento industrial dos últimos séculos. Essa maior retenção de energia na atmosfera tem provocado o aquecimento global, resultando em impactos como perda de espécies vegetais e animais, elevação do nível do mar, acidificação dos oceanos, ondas de calor e precipitações extremas, redução da disponibilidade de água potável e da produção de alimentos, além de aumento de doenças infecciosas, entre outros danos. Tais efeitos afetam direta e indiretamente o bem-estar humano e a economia global (IPCC, 2023).

Figura 1. Concentrações dos GEEs de 1850 a 2019.



Fonte: Adaptação de IPCC, 2023.

Os cinco maiores produtores de petróleo do mundo: EUA, Arábia Saudita, Rússia, Canadá e China, são responsáveis por cerca de 40% das emissões de CO₂ (IEA, 2023). Em termos territoriais, o Brasil ocupa a 12ª posição entre os países que mais emitem carbono; porém, considerando apenas as emissões provenientes do petróleo, o país se posiciona em 7º lugar, totalizando 326 MtCO₂ (GLOBAL CARBON ATLAS, 2023).

Sendo assim, com o objetivo de mitigar os impactos ambientais, foram estabelecidos acordos internacionais. O primeiro deles foi o Protocolo de Quioto, criado em 1997 e entrou em vigor a partir de 2005. Esse tratado estabeleceu metas de redução de GEE para os países desenvolvidos, por serem considerados os maiores emissores. Além disso, o protocolo instituiu o Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL), que permitia aos países desenvolvidos investir em projetos de redução de emissões em nações em desenvolvimento, promovendo tanto a diminuição de GEE quanto o avanço sustentável nessas regiões (UNITED NATIONS CLIMATE CHANGE, s.d.).

Apesar da importância de conscientização e de medidas práticas para a transição energética, o Protocolo de Quioto não atingiu seu objetivo e com isso, foi substituído pelo Acordo de Paris, em 2015, na Conferência das Nações Unidas sobre Mudanças Climáticas (COP), com o objetivo principal de limitar o aquecimento global a 1,5 °C. Foi aderido tanto por países

desenvolvidos, como em desenvolvimento, totalizando 195 países, incluindo o Brasil (UNITED NATIONS, s.d.).

Na COP de 2024 (COP29), o Brasil se comprometeu em reduzir cerca de 1 bilhão de tonelada de CO₂eq até 2035, com a meta principal de neutralizar as emissões de carbono até 2050 (AGÊNCIA GOV, 2024). Entretanto, trata-se de um objetivo desafiador considerando que, segundo a BloombergNEF (2024), o país precisaria reduzir suas emissões em aproximadamente 70% até 2040 para que essa meta seja atingida.

Para enfrentar esse desafio, o Brasil tem implementado diversas ações e políticas públicas. Muitas delas têm foco no combate ao desmatamento, principal fonte de emissão de gases de efeito estufa do país, enquanto outras visam à transição energética. Entre as iniciativas, destacam-se a Lei do Combustível do Futuro, o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), a Política Nacional de Biocombustíveis (RenovaBio), o Selo Combustível Social (SCS) e o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), além de incentivos à pesquisa e ao desenvolvimento na área.

2.1.3 Comparação entre biodiesel e diesel

A importância da transição energética vai além da mitigação climática, pois ela oferece também uma maior segurança econômica aos países, visto que tensões geopolíticas impactam diretamente os preços e a disponibilidade do petróleo no mercado internacional (IEA, 2023). Quanto maior a independência energética de um país, menor a sua vulnerabilidade a esses choques externos (INTERNATIONAL RENEWABLE ENERGY AGENCY (IRENA), 2023). Nesse sentido, a diversificação da matriz energética com fontes renováveis, como o biodiesel, além de reduzir a dependência de importações de combustíveis fósseis, fortalece a economia local e garante maior previsibilidade no planejamento energético (ENERGY INSTITUTE, 2023).

Apesar de ser um dos maiores produtores de petróleo do mundo, o Brasil não possui capacidade de refino suficiente para suprir a sua demanda interna, fazendo do diesel o segundo maior produto importado do país. A guerra na Ucrânia fez com que o Brasil se beneficiasse com os preços de

importações mais atrativos, tornando a Rússia seu principal fornecedor de derivados de petróleo (UOL, 2025). Em 2024, dos US\$ 8,3 bilhões de diesel importados, 65% foram provenientes da Rússia; já no primeiro semestre de 2025, o Brasil teve um aumento de mais de 13% na importação de diesel se comparado a 2024, totalizando cerca de 8 bilhões de litros de diesel (FECOMBUSTÍVEIS, 2025).

O óleo diesel é composto majoritariamente por hidrocarbonetos de cadeia C8 a C16 e, no Brasil, para uso rodoviário, deve atender aos padrões estabelecidos pela Resolução ANP nº 968, de 30 de abril de 2024. De acordo com essa Resolução, o diesel é classificado em três categorias: diesel A, B e C. O diesel A corresponde ao combustível puro, obtido a partir de fontes não-renováveis; o diesel B é o resultado da mistura do diesel fóssil com biodiesel; e o diesel C é produzido a partir de fontes renováveis e não-renováveis, incluindo processos industriais.

O teor de enxofre é um parâmetro importante para a qualidade do diesel, visto que sua presença em concentrações elevadas reduz a vida útil do motor. Além disso, a queima de diesel libera óxidos de enxofre, podendo causar impactos ambientais, como a formação de chuva ácida (SHAHID; JAMAL, 2011; AGARWAL; GUPTA; KOTHARI, 2011). Sendo assim, diesel com classificação S10 deve ter teor máximo de enxofre de 10 ppm e diesel S500, teor máximo de 500 ppm (ANP, 2024). Outras características importantes são o número de cetano, que mede a facilidade de ignição do combustível, e a massa específica, que deve ser suficiente para garantir um consumo adequado do combustível e que não eleve muito a emissões de gases e materiais particulados causada por uma baixa eficiência (PETROBRAS, s.d). O diesel S10 deve ter um número de cetano mínimo de 48, enquanto o S500, mínimo de 42. Com relação à massa específica, o S10 deve variar de 815 a 850 kg/m³, já o S500, de 815 a 865 kg/m³ (ANP, 2024).

O biodiesel é definido como um éster monoalquílico, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais (IEA, 2023). É considerado como uma fonte de energia limpa por ser produzido a partir de recursos renováveis, sendo assim, biodegradável, sustentável e contribui para a redução dos GEE (TAMILSELVAN; NALLUSAMY; RAJKUMAR, 2017). Além disso, é um biocombustível equivalente ao diesel; portanto, pode substituí-lo sem prejuízo

aos motores (QU et al., 2009). Entretanto, a qualidade do biodiesel pode variar de acordo com a qualidade da matéria-prima e do seu processo de produção (DELATORRE et al., 2011; ATHAR; ZAIDI, 2020). Sendo assim, há legislações que definem os padrões de qualidade do biodiesel, sendo a norma americana *American Society for Testing and Materials* (ASTM D6751) e a da União Europeia (EN 14214) as mais conhecidas (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009). No Brasil, a norma se dá pela Resolução da ANP nº 45, de 25 de agosto de 2014 e algumas dessas especificações são: teor máximo de água de 100 mg/g; teor mínimo de éster de 96,5% em massa; índice de acidez máxima de 0,50 mg KOH/g; mono-, di- e triacilglicerol máximo de 0,7 %, 0,20% e 0,20% em massa, respectivamente (ANP, 2024).

De acordo com XU et al. (2022), matérias-primas oleaginosas podem reduzir entre 63% e 77% as emissões de gases de efeito estufa quando comparadas às fontes fósseis, devido ao teor de enxofre praticamente nulo, que contribui para emissões significativamente menores de compostos sulfurados durante a combustão.

No Brasil, a região Sul é a maior produtora de biodiesel, seguida pela região Centro-Oeste. Juntas, essas duas regiões respondem por cerca de 80% da produção nacional (ANP, 2025). Esse predomínio se deve principalmente à disponibilidade de matéria-prima, uma vez que a soja, responsável pela maior parte do biodiesel brasileiro, é amplamente cultivada nessas regiões (EMBRAPA, 2025).

Em 2017, a produção brasileira de biodiesel foi de 4 milhões de m³. Em 2023, esse valor duplicou e em 2024, chegou a 9 milhões (ANP, 2025). Com a alta produção, o país é o terceiro maior produtor do mundo e possui 38 usinas de biodiesel autorizadas pela RenovaBio (WORD ENERGY ASSOCIATION, 2025).

No panorama mundial, foram produzidos cerca de 50 milhões de m³ em 2023 (IEA, 2025), com um destaque para a Indonésia que em menos de 10 anos aumentou sua produção em 10 milhões de m³, saltando de 4 milhões de m³ em 2014, para 14 milhões em 2023 (WORD ENERGY ASSOCIATION, 2024).

Sendo assim, observa-se que tanto o Brasil quanto os principais produtores globais vêm expandindo de forma consistente sua capacidade de

geração de biodiesel, reforçando a importância desse biocombustível na matriz energética mundial. Esse avanço contribui diretamente para o impulso à descarbonização e para o fortalecimento da segurança energética nos próximos anos.

2.2 Processos de obtenção de biodiesel

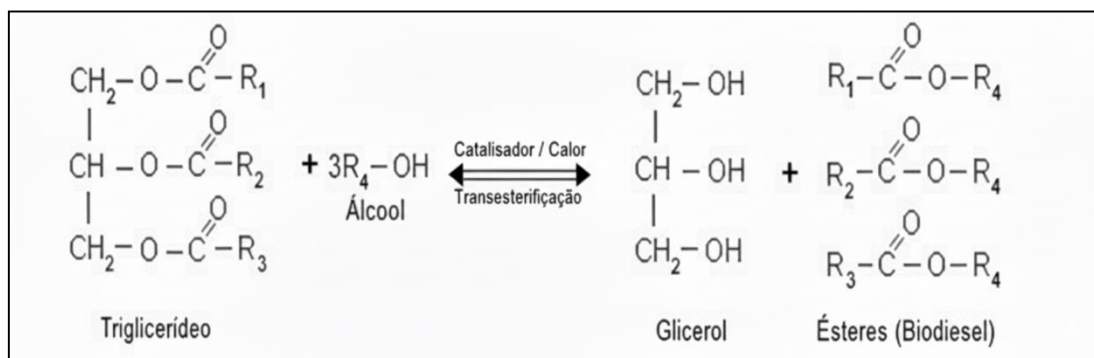
2.2.1 Reação de transesterificação: glicerol como coproduto

Dentre as diferentes rotas disponíveis para a produção de biodiesel, a transesterificação (Figura 2) é a mais consolidada, sendo amplamente empregada tanto em escala laboratorial quanto industrial (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006; BAJAJ et al., 2010; NARWAL; GUPTA, 2012). Nesse processo, um álcool de cadeia curta atua como agente transesterificante, convertendo triglicerídeos em ésteres monoalquílicos, que constituem o biodiesel. Entre os álcoois de cadeia curta utilizados, o metanol é o mais empregado, devido à sua elevada reatividade e baixo custo, o que resulta em maior eficiência no processo produtivo. Contudo, em sistemas de catálise enzimática, o metanol pode provocar a desnaturação parcial ou total da enzima, reduzindo sua atividade catalítica (RANGANATHAN; NARASIMHAN; MUTHUKUMAR, 2008; LOTTI et al., 2018). No contexto brasileiro, o etanol se destaca como uma alternativa atrativa, uma vez que o país é o maior produtor mundial desse biocombustível. Embora apresente uma cinética reacional mais lenta em comparação ao metanol, o etanol é menos tóxico e apresenta caráter renovável, conferindo maior sustentabilidade ao processo (CARDOSO et al., 2020; LOTTI et al., 2015).

Para uma maior otimização do processo, diversas variáveis devem ser consideradas, como a temperatura, o tempo de reação e o tipo de catalisador. Na transesterificação convencional, os catalisadores químicos podem ser ácidos ou básicos, homogêneos ou heterogêneos (RAMOS et al., 2011; MARCHETTI; MIGUEL; ERAZU, 2007). O mais utilizado na catálise básica homogênea é o hidróxido de sódio ou de potássio, devido à possibilidade de operar em condições mais brandas e alcançar alto rendimento em menor tempo, em comparação com catalisadores ácidos, como o ácido sulfúrico.

Entre as desvantagens, destacam-se o maior custo de purificação, uma vez que o catalisador homogêneo não pode ser facilmente separado da solução, e a formação de reações indesejadas, como a saponificação, quando se utiliza matéria-prima com alto teor de ácidos graxos livres ou em presença de água (ATADASHI; AROUA; AZIZ, 2011; YILMAZ, 2012).

Figura 2. Reação de transesterificação para produção de biodiesel



Fonte: Autoria Própria, 2025.

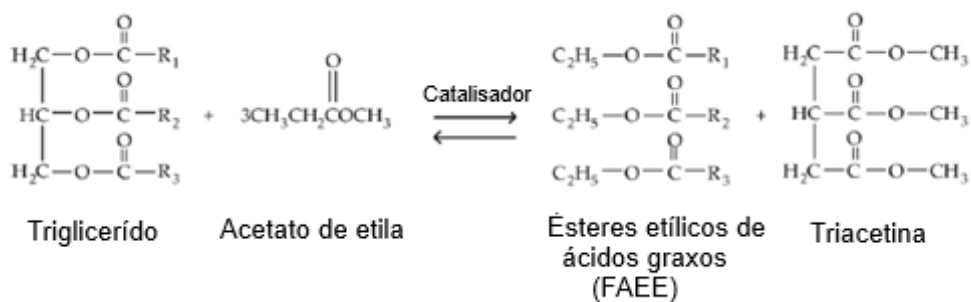
Como representado na Figura 2, na reação de transesterificação o principal coproduto formado é o glicerol, que tem ampla aplicação em diferentes setores industriais, pois pode ser empregado como umectante nas indústrias cosmética e farmacêutica, como aditivo na preservação de alimentos, entre outras finalidades (DHAWAN; YADAV, 2018). No entanto, a purificação do glicerol proveniente da produção de biodiesel representa um desafio, pois envolve custos elevados e, muitas vezes, não alcança a pureza necessária para aplicações que exigem um grau elevado (MARX, 2016; VARGAS et al., 2018). Além disso, o crescimento da produção mundial de biodiesel resultou em um excesso de glicerol no mercado, uma vez que 10 m³ de biodiesel formado gera 1 m³ de glicerol, diminuindo ainda mais seu valor comercial (USAI et al., 2010). Dessa forma, o glicerol obtido pela transesterificação é geralmente destinado a usos de menor exigência em termos de pureza, nos quais a presença de impurezas não compromete seu desempenho, como na formulação de produtos plásticos e outros materiais industriais, pois para ser considerado glicerina é necessário ter 95% de glicerol. (MOTA; PESTANA, 2011).

2.2.2 Reação de interesterificação: triacetina como coproduto

Como alternativa ao processo convencional de transesterificação, o biodiesel pode ser obtido por meio da reação de interesterificação. Nesse processo, o acetato atua como receptor de acila, substituindo o álcool tradicional, e gera, além do biodiesel (ésteres de ácidos graxos), um coproduto de alto valor agregado: a triacetina (YOUSSEF, 2024; LAIPNIECE; KAMPARS, 2022; DARYONO, 2025).

A reação de interesterificação ocorre em três etapas sucessivas. Na primeira, o triglicerídeo reage com o acetato, na presença de um catalisador, formando monoacetildiglicerídeo e ésteres de ácidos graxos. Na segunda etapa, o monoacetildiglicerídeo reage novamente com o acetato, produzindo diacetilglicerídeo e novos ésteres de ácidos graxos. Por fim, na terceira etapa, o diacetilglicerídeo reage com o acetato, originando triacetina e mais ésteres de ácidos graxos (biodiesel) (MADDIKERI; PANDIT; GOGATE, 2013). A reação global correspondente está representada na Figura 3, tendo o acetato de etila como receptor de acila.

Figura 3. Reação de interesterificação por meio de acetato de etila.



Fonte: Adaptação de (KUSUMANINGTYAS et al., 2022)

O acetato de metila apresenta como desvantagem a menor reatividade em comparação ao metanol. Além disso, por ser produzido a partir do metanol, constitui uma fonte predominantemente não renovável, uma vez que, embora a produção de biometanol seja tecnicamente viável, a maior parte do metanol utilizado industrialmente ainda é derivada de matérias-primas fósseis (ATHAR; ZAIDI, 2020). Por outro lado, o acetato de etila, obtido a partir do etanol, representa uma alternativa mais sustentável, permitindo a produção

de biodiesel com maior número de cetano, em razão do maior número de átomos de carbono em sua molécula (WONG et al., 2023). Além disso, segundo Modi et.al (2007), o acetato de etila apresenta bom desempenho em catálises enzimáticas, uma vez que lipases imobilizadas demonstram elevada estabilidade ao longo de vários ciclos. Entretanto, o rendimento obtido com o uso do acetato de etila pode ser ligeiramente inferior ao observado quando se utiliza o acetato de metila.

2.2.2.1 Triacetina

A triacetina é um triglicerídeo, também conhecido como triacetato de glicerina, de nome IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry): 2,3-diacetiloxipropil acetato. É um produto utilizado mundialmente, por exemplo, como plastificante, solvente e umectante nas mais diversas indústrias: alimentícia, farmacêutica, cosmética, de adesivos, de tintas e de tabaco. Sua maior participação no mercado se concentra na região Ásia-Pacífico, e um dos motivos é o fato da Índia ter grande participação mundial em produtos farmacêuticos e ser o segundo maior exportador de tabaco. Além disso, a China é responsável por 90% dos cigarros eletrônicos produzidos no mundo (MORDOR INTELLIGENCE, 2023).

No contexto dos biocombustíveis, a produção de triacetina surge como uma alternativa promissora diante da necessidade de desenvolver novas rotas para a síntese de biodiesel. Apesar do seu potencial como coproduto de alto valor agregado, ainda há poucos estudos sobre o tema. Atualmente, existem apenas duas patentes ativas relacionadas à produção de triacetina, sendo uma delas especificamente voltada à sua obtenção em processos de produção de biodiesel (SANTOS; STUTZ; YOUNG, 2024).

A produção de biodiesel por meio da reação de interesterificação, além de solucionar o problema do excesso de glicerol gerado no processo convencional, resulta na formação de triacetina como coproduto de alto valor agregado. Esse composto atua como um bioaditivo natural, tornando o processo produtivo mais sustentável e eficiente. A triacetina, por ser de origem renovável e apresentar baixa toxicidade, pode substituir aditivos químicos derivados do petróleo, reduzindo o impacto ambiental e agregando valor ao combustível

(MUFRODI et al., 2025). Sua boa solubilidade no biodiesel favorece a estabilidade e o desempenho do produto, contribuindo também para o aumento do índice de octanagem e para a melhoria de suas propriedades de combustão. Além disso, a adição de até 10% em massa de triacetina ao biodiesel permite que o combustível atenda às normas internacionais de qualidade (MADDIKER; PANDIT; GOGATE, 2013) e auxilia na redução das emissões de óxidos de nitrogênio (NO_x) e da formação de fumaça no escapamento (KUSUMANINGTYAS et al., 2022).⁴

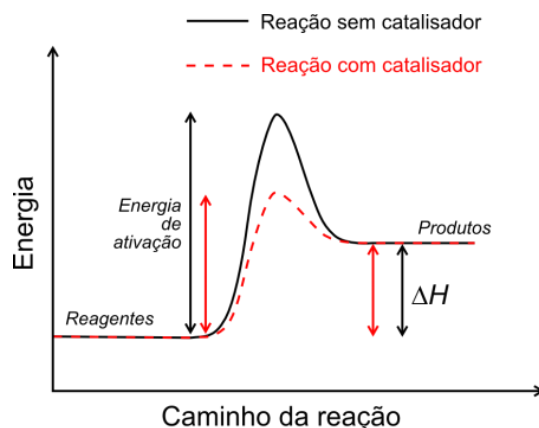
2.3 Biocatálise aplicada ao biodiesel

2.3.1 Introdução às lipases como catalisadores

A maioria das reações químicas e bioquímicas ocorre em velocidades extremamente lentas e seria inviável sem a presença de um catalisador. Os catalisadores têm a função de reduzir a energia de ativação, proporcionando um novo caminho para que uma reação aconteça (Figura 4) (ANOBOM et al., 2014). No caso das reações bioquímicas, as enzimas atuam como catalisadores altamente eficientes, capazes de acelerar a velocidade das reações em até cem quatrilhões de vezes (10^{17}) (MARQUES, 2014).

Apesar da relevância das enzimas, até o início do século XX acreditava-se que elas eram formadas exclusivamente por proteínas. Somente na década de 1970 descobriu-se que grande parte delas também possuem cofatores ou coenzimas (metais ou moléculas orgânicas) que, embora compo-
nham menos de 0,1% da estrutura enzimática, são essenciais para sua atividade (NELSON; COX, 2014; MARQUES, 2014).

Figura 4. Efeito do catalisador sobre a energia de ativação da reação



Fonte: Commons, 2024.

Diferentemente dos catalisadores químicos, as enzimas apresentam alta especificidade, reconhecendo e catalisando apenas determinados substratos. Além disso, podem exibir seletividade, demonstrando preferência por certas ligações químicas, posições na molécula ou até mesmo enantiômeros (NELSON; COX, 2014; OLIVEIRA et al., 2025). Essa especificidade resulta da presença do sítio ativo, uma região composta por aminoácidos organizados de forma precisa na estrutura enzimática. Esses aminoácidos são responsáveis por formar o complexo enzima-substrato, permitindo que a reação ocorra. A composição e o número de aminoácidos no sítio ativo variam de uma enzima para outra, conferindo-lhes características únicas. Importante destacar que os catalisadores não participam ativamente da reação, ou seja, não são consumidos. Apesar de sofrerem alterações químicas em sua estrutura durante a reação, retornam para sua forma original ao final do processo (MARZZOCO; TORRES, 1999; MARQUES, 2014).

As enzimas são macromoléculas compostas por vários aminoácidos, que são unidos por ligações peptídicas. As lipases são enzimas hidrolíticas pertencentes à classe das triacilglicerol hidrolases (EC 3.1.1.3), responsáveis por catalisar a hidrólise de triglicerídeos de cadeia longa (EXPASY, s.d.). Devido à sua versatilidade e compatibilidade com diferentes substratos, têm ampla aplicação em diversos setores industriais (HASAN et al., 2010; DICOSIMO et al., 2013). Seus principais atributos incluem a especificidade por diferentes tipos de ácidos graxos, a regioespecificidade (podendo atuar em todas as po-

sições do glicerol ou de forma seletiva nas posições sn-1 e sn-3) e a enantio-seletividade, uma vez que podem atuar como catalisadores quirais com preferência por determinados isômeros R ou S dos substratos ou produtos (CHANDRA; ENESPA; ARORA, 2020; FREITAS, 2021).

As lipases podem atuar em diferentes faixas de pH (4,5 a 11), em diferentes temperaturas (25 a 80°C) e podem ter massa molecular que vão de 9,4 a 195 kDa (VESCOVI, 2012). Essa variação se dá pelas fontes de obtenção da enzima, que podem ser animais, vegetais ou microbiológicas. Elas trabalham na interface óleo-água e possuem uma “tampa” hidrofóbica polipeptídica, que altera a conformação do sítio ativo. Quando a lipase está inativa, o sítio ativo fica isolado, por conta de a “tampa” permanecer fechada. Contudo, ela consegue se ativar ao interagir com uma interface hidrofóbica, onde a “tampa” fica aberta e, consequentemente, o sítio ativo fica exposto (DEREWENDA et al., 1992; VERGER, 1997; MILED et al., 2001).

De acordo com a base de dados Scopus, há registros de pesquisas científicas sobre biocombustíveis desde o final da década de 1970. No entanto, nos últimos 15 anos, a produção de biodiesel catalisada por enzimas, especialmente lipases, tem se destacado devido ao seu menor impacto ambiental em comparação ao processo químico convencional. Porém, apesar dos avanços significativos nessa área, a viabilidade econômica desse processo alternativo ainda representa um dos principais desafios para sua aplicação em escala industrial.

2.3.2 Enzimas livres vs. imobilizadas

O principal catalisador na produção de biodiesel é o hidróxido de sódio, cuja principal vantagem é o baixo custo e a facilidade de aplicação em escala industrial. No entanto, esse catalisador apresenta várias desvantagens, como a promoção de reações indesejadas de saponificação, que consomem parte do catalisador, reduzem o rendimento global do processo e dificultam as etapas de purificação do biodiesel. Em contrapartida, a rota enzimática, embora apresente custos mais elevados, permite maior seletividade reacional; contudo, exige controle mais rigoroso dos parâmetros operacionais e

apresenta cinética mais lenta quando comparada à catálise alcalina convencional (MADDIKERI; PANDIT; GOGATE, 2013).

Uma estratégia eficaz para reduzir os custos na produção de biodiesel por biocatálise é a imobilização enzimática, técnica que consiste no confinamento da enzima em um suporte sólido, preservando sua atividade catalítica (BASSO; SERBAN, 2019). Entre suas principais vantagens destacam-se a facilidade de recuperação e reutilização da enzima, viabilizada por simples processos de separação, como filtração, inviáveis para enzimas livres, bem como o aumento da estabilidade da enzima (JEGANNATHAN et al., 2008; NIGAM et al., 2014). No entanto, para viabilizar sua aplicação em larga escala, é necessário avaliar diversos parâmetros, como o custo e a natureza do suporte, a eficiência catalítica inicial e após sucessivos ciclos de reutilização, a estabilidade térmica da enzima imobilizada, a tolerância frente aos reagentes do processo, entre outras condições operacionais relevantes (BASSO; SERBAN, 2019; NARWAL; GUPTA, 2012).

Entre as técnicas de imobilização, a adsorção é amplamente utilizada para lipases, por ser um método simples e apresentar elevada recuperação da atividade enzimática. Além disso, os suportes empregados são, em geral, resinas de baixo custo. Nesse método, as enzimas são adsorvidas na superfície do suporte, e a eficiência do processo depende de características como a hidrofobicidade, o tamanho da partícula e a porosidade do suporte, o pH da solução da imobilização e as limitações difusionais associadas à transferência de massa. Entretanto, uma das principais desvantagens dessa técnica é a possibilidade de dessorção da enzima (lixiviação), que pode ocorrer em função do longo tempo de reação, característica inerente à catálise enzimática, ou da utilização de meios reacionais em temperaturas elevadas (ZHAO et al., 2015; NIGAM et al., 2014).

A adsorção física é considerada a técnica mais simples e pode ser realizada por meio de interações iônicas ou hidrofóbicas, sendo estas últimas as mais comumente empregadas (ADLERCREUTZ, 2013). Esse método é viabilizado por interações físicas suficientemente fortes para promover a adsorção da enzima na superfície do suporte, mas não intensas a ponto de alterar sua estrutura conformacional, permitindo a preservação da atividade catalítica (JESIONOWSKI; ZDARTA; KRAJEWSKA, 2014). Para que a

imobilização ocorra de forma eficiente, é necessário considerar parâmetros como o tamanho das partículas e a estrutura dos poros (GUISAN, 2013; JESIONOWSKI; ZDARTA; KRAJEWSKA, 2014). Bello et al. (2025) demonstraram que a imobilização da lipase LipAMS8 em Seplite LX120 resultou em boa estabilidade em diferentes condições de temperatura, pH e solventes orgânicos, mantendo até 50% da atividade da enzima após 10 ciclos de reutilização.

O encapsulamento é outra técnica de imobilização que promove a estabilização da enzima em razão de sua maior fixação ao suporte, uma vez que o biocatalisador permanece confinado no interior de matrizes que permitem a difusão tanto dos substratos quanto dos produtos da reação (ARIAEENEJAD et al., 2025). A forma mais comumente empregada desse método baseia-se em sistemas do tipo solução–gel (ADLERCREUTZ, 2013). Kalita e Sit (2025) demonstraram que a imobilização da celulase bruta de *Aspergillus foetidus* por encapsulamento em cubos de ágar resultou em um aumento de aproximadamente 10 °C na estabilidade térmica da enzima, além de apresentar elevada eficiência de imobilização, superior a 90%.

O acoplamento covalente consiste em um método químico de imobilização que envolve a ligação direta entre grupos funcionais do suporte e grupos ativos da enzima (FENG et al., 2023; CAVALCANTE et al., 2024). Esse processo requer a ativação prévia do suporte, a qual pode ser feita por diferentes tratamentos químicos que introduzem grupos capazes de formar ligações covalentes com a enzima (PRABHAKAR et al., 2025; BASSO; SERBAN, 2019). A principal vantagem desse método é a elevada estabilidade do biocatalisador, especialmente quando exposto a altas concentrações de substrato, o que geralmente resulta em maior resistência à inativação enzimática. Além disso, a imobilização covalente pode favorecer a conversão da reação catalisada, podendo duplicar a eficiência da enzima em comparação à forma livre, dependendo do grupo funcional empregado e das condições de imobilização (YUYING et al., 2025).

A reticulação baseia-se na formação de agregados enzimáticos interligados entre si por agentes reticulantes, resultando em estruturas tridimensionais estáveis conhecidas como agregados enzimáticos reticulados (CLEAs) (ADLERCREUTZ, 2013; REHMAN et al. 2016). Nesse método, as

moléculas de enzima são inicialmente precipitadas e posteriormente interconectadas covalentemente, dispensando o uso de suportes sólidos. Essa característica confere uma vantagem econômica significativa ao processo, uma vez que reduz os custos associados à aquisição e preparação de suportes, além de minimizar a ocorrência de lixiviação da enzima em meio aquoso (CUI et al., 2016; SAMPAIO et al., 2022).

2.3.3 Eversa® Transform 2.0 e Lipase B de *Candida antarctica* (CALB)

A Eversa® Transform 2.0 é uma lipase geneticamente modificada a partir da lipase do fungo *Thermomyces lanuginosus*, formulada pela Novozymes A/S em 2016, especificamente para a produção de biodiesel. Por ser uma enzima líquida, apresenta menor custo em relação às enzimas imobilizadas e não foi originalmente desenvolvida com o objetivo de ser reutilizada (NIELSEN et al., 2016; LIOW et al., 2024). A Eversa® 2.0 é corresponde à segunda geração dessa enzima, sendo que a primeira formulação, lançada em 2014, era conhecida como Eversa® Transform e pode ser encontrado na literatura sob o nome comercial anterior Callera Trans. Segundo Miranda (2020), a Eversa® apresenta maior estabilidade quando operada à temperatura de 40°C.

Estudos como o de Miranda et al. (2020) demonstraram que a imobilização da Eversa® 2.0 por meio da técnica de agregados enzimáticos reticulados (CLEAs) resultou em um rendimento de imobilização de 98,9%. Quando aplicada à transesterificação do óleo de soja com etanol, a enzima imobilizada alcançou 89,8% de ésteres etílicos em 12 h de reação, enquanto a enzima livre necessitou de 48 h para atingir rendimento semelhante, além de manter 89,6% de sua atividade após cinco ciclos de reutilização. De forma semelhante, Loh et al. (2021) relataram a produção de biodiesel a partir de óleo de palma residual e metanol, na razão molar 1:5, catalisada pela Eversa® na concentração de 0,2% em massa, operando a 45 °C, obtendo-se 94% em massa de ésteres, além da produção de glicerol com maior pureza quando comparado ao processo químico convencional.

Também é possível alcançar elevados rendimentos utilizando a Eversa® em sua forma livre. Sun, Guo e Chen (2021) empregaram óleo não comestível de semente de *Semen Abutili* como matéria-prima para a produção de biodiesel e, sob condições otimizadas de reação, com 6% de lipase, razão etanol:óleo de 7:1, 20% de água, temperatura de 37 °C e tempo reacional de 11 h, obtiveram rendimento máximo de biodiesel de $94,2 \pm 1,3\%$.

A lipase B de *Candida antarctica* (CALB) pode ser encontrada tanto na forma livre quanto imobilizada e apresenta elevada estereoespecificidade, sendo amplamente utilizada em reações de hidrólise e síntese de ésteres. Essa enzima possui um sítio ativo sem impedimentos estéricos, não necessitando de ativação interfacial, característica que a diferencia da maioria das lipases (IDRIS; BUKHARI, 2012; GUIMARÃES et al., 2023).

Diversos estudos reportam o uso da CALB imobilizada, em razão das vantagens em relação às enzimas solúveis, tais como maior estabilidade térmica, menor suscetibilidade à desnaturação e, conseqüentemente, maior estabilidade operacional, além da possibilidade de reutilização do biocatalisador (DU; WANG; LIU, 2007; IDRIS; BUKHARI, 2012). Entretanto, a CALB imobilizada também pode apresentar algumas limitações, como a fragilidade mecânica do suporte, acúmulo de compostos hidrofílicos e dissolução do suporte em meios orgânicos (TIOSSO, 2010; ORTIZ et al., 2019).

Mehrasbi et al. (2017) obtiveram conversões próximas a 100% na reação de transesterificação de óleo de cozinha com metanol, na razão molar de 1:3, utilizando CALB imobilizada covalentemente em nanopartículas magnéticas do tipo núcleo-casca ($\text{Fe}_3\text{O}_4\text{SiO}_2$), funcionalizadas com (3-glicidoxipropil)trimetoxisilano (GPTMS). De forma semelhante, Cruz-Izquierdo et al. (2014) relataram a imobilização da CALB na forma de agregados enzimáticos reticulados ligados covalentemente a nanopartículas magnéticas funcionalizadas com grupos amina, obtendo conversões em torno de 80% a 30°C após 24 horas de reação e valores de até 92% após 72 horas, empregando diferentes óleos vegetais e óleo de fritura residual.

2.4 Óleo de babaçu

O babaçu é uma palmeira encontrada predominantemente na região Norte e no Cerrado do Brasil. Cada palmeira pode apresentar até cinco cachos de flores amareladas, sendo que cada cacho pode produzir até 500 frutos (cocos). O interior do coco contém amêndoas, que constituem a principal matéria-prima para a produção do óleo de babaçu. No entanto, praticamente todas as partes da palmeira podem ser aproveitadas, seja na alimentação animal, na confecção de produtos artesanais ou na produção de alimentos, como a farinha conhecida como pó de babaçu. A extração do óleo é tradicionalmente realizada de forma artesanal pela população local, especialmente pelas chamadas quebradeiras de coco, desempenhando papel relevante no contexto socioeconômico regional (ISPN – INSTITUTO SOCIEDADE, POPULAÇÃO E NATUREZA, s.d.).

As características físico-químicas da matéria-prima exercem influência direta sobre a qualidade do biodiesel. Em processos catalisados por bases, óleos com elevado teor de ácidos graxos livres comprometem significativamente o rendimento do biocombustível em função da reação paralela de saponificação (ATHAR; ZAIDI, 2020). O óleo de babaçu apresenta baixo índice de acidez, conforme apresentado na Tabela 1, o que o torna adequado para processos alcalinos convencionais. Entretanto, na catálise enzimática, esse parâmetro apresenta menor relevância, uma vez que as lipases são capazes de atuar tanto sobre triglicerídeos quanto sobre ácidos graxos livres, favorecendo a conversão em ésteres (MONTEIRO et al., 2021).

A composição em ácidos graxos constitui outro fator determinante, uma vez que óleos ricos em cadeias saturadas tendem a apresentar maiores valores de índice de cetano, resultando em biodiesel com melhor qualidade de combustão. O óleo de babaçu contém cerca de 50% de ácidos graxos saturados, os quais são biodegradáveis e apresentam propriedades semelhantes às do querosene e do diesel. Entretanto, sua composição não é predominante formada por cadeias longas, sendo majoritariamente constituída por ácido láurico (C12), em concentrações que variam entre 40 e 55%, conforme apresentado na Tabela 2. Essa característica influencia o ponto de fulgor do biodiesel, pois ácidos graxos de cadeia mais curta originam combustíveis com ponto de fulgor inferior quando comparados aos de cadeias longas. Tal aspecto representa uma desvantagem, considerando que valores

mais elevados de ponto de fulgor estão associados a maior segurança no armazenamento do biocombustível (PONTE et. al, 2017; ATHAR; ZAIDI, 2020).

Tabela 1. Características físico-químicas do óleo de babaçu.

Propriedade	Unidade	Valores de referência
Densidade (15 °C)	g/mL	0,903 – 0,924
Índice de iodo	g I ₂ /100g	14 – 23
Índice de saponificação	mg KOH/g	247 – 255
Matéria insaponificável	%	< 1,0
Índice de acidez	mg KOH/g	< 0,3
Índice de peróxido	m Eq/kg	< 10,0

Fonte: (CAMPESTRE, s.d).

Tabela 2. Composição em ácidos graxos do óleo de babaçu.

Ácido graxo	Estrutura	Valores de referência
Ácido caprílico (C8)	C8:0	2,6 – 7,3
Ácido cáprico (C10)	C10:0	1,2 – 7,6
Ácido láurico (C12)	C12:0	40,0 – 55,0
Ácido mirístico (C14)	C14:0	11,0 – 27,0
Ácido palmítico (C16)	C16:0	5,2 – 11,0
Ácido esteárico (C18)	C18:0	1,8 – 7,4
Ácido oleico (C18:1 cis)	C18:1	9,0 – 20,0
Ácido linoleico (C18:2)	C18:2	1,4 – 6,6

Fonte: (CAMPESTRE, s.d).

Sendo assim, em função de suas características físico-químicas e de sua ampla disponibilidade, o óleo de babaçu é uma matéria-prima promissora para a produção de biodiesel. Além disso, embora seja comestível, sua utilização não concorre de forma significativa com a indústria alimentícia. Diferentemente de óleos como soja, girassol e canola, amplamente empregados na produção de biodiesel, os quais elevam consideravelmente o custo do processo, uma vez que o óleo pode representar mais de 50% do custo total do biocombustível, o óleo de babaçu surge como uma alternativa

economicamente mais viável do ponto de vista econômico (ATHAR; ZAIDI, 2020).

A pesquisa realizada na base de dados Scopus, apresentada na Tabela 3, evidencia a quantidade limitada de estudos envolvendo a produção de biodiesel a partir do óleo de babaçu, especialmente quando associada à formação de triacetina e ao emprego de catálise enzimática.

Tabela 3. Levantamento de publicações na base Scopus relacionadas a biodiesel, óleo de babaçu e triacetina

Palavras-chaves Pesquisadas	Total de Artigos	Catálise por Lipase
Biodiesel	54.430	2.417
Biodiesel + babassu oil	93	25
Biodiesel + triacetin	207	13
Biodiesel + babassu oil + triacetin	1	-

Pesquisa realizada em outubro de 2025.

Enquanto a busca pelo termo “biodiesel” resultou em mais de 54 mil publicações, apenas 93 trabalhos abordam o uso do óleo de babaçu como matéria-prima, e um número ainda menor (13 estudos) relaciona-se à produção simultânea de triacetina. Não foi encontrado nenhum trabalho combinando os termos “biodiesel”, “babaçu” e “triacetina”, o que reforça o caráter inovador desta pesquisa. O único estudo encontrado utilizando óleo de babaçu como matéria-prima foi conduzido por Priebe et al. (2024), que relataram um rendimento de 95,4% de biodiesel com teor de 17,6% de triacetina em 180 minutos de reação, por meio de interesterificação com acetato de etila catalisada por ácido sulfúrico, empregando razão molar óleo/acetato de 1:60, sob ultrassom, a 50 °C. Dessa forma, o presente trabalho se diferencia por investigar a mesma rota reacional, utilizando óleo de babaçu e acetato de etila, porém sob condições mais sustentáveis, empregando catálise enzimática com Eversa® Transform 2.0, com o objetivo de avaliar o desempenho da enzima e o potencial de obtenção simultânea de biodiesel e triacetina.

A Tabela 4 apresenta uma síntese da literatura referente aos estudos sobre a produção enzimática de biodiesel por interesterificação de diferentes óleos com acetatos de cadeia curta.

Tabela 4. Trabalhos reportados na literatura sobre a produção de biodiesel por interesterificação utilizando acetatos de cadeia curta.

Matéria-prima	Aceitador de acila	Carga enzimática e razão molar óleo/acetato	Catalisador	Temperatura	Tempo de reação	Rendimento de Biodiesel
Óleo de girassol	Acetato de etila	10% 1:11	Novozym 435	50 °C	12 h	cerca de 90% ¹
Óleo de lodo de esgoto	Acetato de etila	18% 1:24	Novozym 435	40 °C	15 h	95,78% ²
Óleo de palma	Acetato de metila	2% 1:12	Lipase	40 °C	50 h	53,99% ²
Óleo de semente de <i>Calophyllum inophyllum</i>	Acetato de etila	20% 1:3	Eversa® Transform 2.0	44,43 °C	5 h	41,46% ³
Óleo de palma	Acetato de metila	1% 1:9	<i>Candida antarctica</i> A imobilizada	45 °C * induzida por ultrassom	3 h	80,6% ⁴
Óleo de rícino	Acetato de metila	30% 1:13	Lipozyme TL imobilizada	60 °C	24 h	71 % ⁵
Óleo de pinhão-mansão	Acetato de etila	0,5% 1:6	<i>Candida Antarctica</i>	70 °C	6 h	82% ⁶
Óleo de soja	Acetato de metila	30% 1:12	Novozym 435	40 °C	14 h	92% ⁷
Óleo de babaçu	Acetato de etila	2,5% 1:60	Ácido Sulfúrico	50 °C * induzida por ultrassom	3 h	95,4% com teor de 17,6% de triacetina ⁸

Fonte: ¹: (MODI et al. 2007); ²: (WONG et al., 2023); ³: (KUSUMANINGTYAS, et al., 2022); ⁴: (ZAINAL, et al., 2023); ⁵: (GÓMEZ-CALVO; GALLARDO; LADERO, 2022); ⁶: (KUSUMANINGTYAS; PRISTİYANI; DEWAJANI, 2016); ⁷: (DU et al., 2004); ⁸: (PRIEBE et al., 2024).

Observa-se que o uso de enzimas como catalisadores na interesterificação com acetatos de cadeia curta permite alcançar bons rendimentos de biodiesel, mesmo sob condições brandas de reação. Observa-se que tanto o acetato de metila quanto o acetato de etila têm sido empregados em conjunto com diferentes óleos vegetais, obtendo-se rendimentos superiores a 70%, dependendo da enzima e das condições operacionais empregadas. Dentre os catalisadores mais frequentemente reportados, destacam-se as lipases Novozym 435, Eversa® Transform 2.0 e

lipase B de *Candida antarctica*, as quais apresentam elevada seletividade e boa estabilidade operacional.

Apesar da utilização de acetatos possibilitar a formação de um coproduto de alto valor agregado, como a triacetina, a maioria dos estudos não quantifica esse composto, concentrando-se principalmente na otimização do rendimento de biodiesel, sem explorar a separação e o aproveitamento da triacetina como produto adicional do processo. Deve-se destacar, porém, que a triacetina apresenta boa solubilidade no biodiesel, podendo ser incorporada em proporções de aproximadamente 10-20 % em massa, sem formação de fases separadas ou comprometimento das propriedades estabelecidas pelas normas internacionais de qualidade (WONG et al., 2023).

Nesse contexto, embora a rota enzimática apresente vantagens ambientais e operacionais, ainda enfrenta limitações associadas ao tempo de reação e à transferência de massa em sistemas convencionais. Assim, a intensificação de processos é uma estratégia que pode contribuir para o aumento da eficiência reacional, destacando-se o uso do aquecimento por micro-ondas como uma das alternativas.

2.5 Reator por irradiação de micro-ondas

A eficiência desse tipo de aquecimento está associada à interação direta das micro-ondas com as moléculas presentes no meio reacional, promovendo aquecimento volumétrico e mais uniforme. Diferentemente do aquecimento convencional, em que o calor é transferido por condução a partir da parede do reator, o aquecimento por micro-ondas induz a agitação molecular interna e reduz gradientes térmicos locais, resultando em maior disponibilidade de energia para colisões efetivas entre substrato e biocatalisador (NAROWSKA; KULAZYŃSKI; LUKASZEWICZ, 2015; VERMA; VERMA; FUERTES, 2024).

Além disso, estudos relatam que o uso de micro-ondas pode reduzir a energia de ativação aparente e aumentar a difusividade dos reagentes em sistemas heterogêneos contendo enzimas imobilizadas, sem causar desnaturação enzimática quando operado sob condições controladas de potência e temperatura (WANG et al., 2022; REJASSE et al., 2006). Assim, o

aquecimento por micro-ondas representa uma alternativa promissora para a produção de biodiesel e derivados acetilados, possibilitando a redução do tempo de reação e do consumo energético, sem comprometer o rendimento e a seletividade da reação enzimática (KUMAR: KUMAR; CHANDRASHEKAR, 2011; KAMATH; REPUPATHI; SAIDUTTA, 2011; DA RÓS et al., 2013).

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

Lipase Eversa® Transform 2.0 e lipase B de *Candida antarctica*, fabricadas pela Novozymes A/S (Bagsvaed, Dinamarca), foram adquiridas da Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA). Albumina de soro bovino ($\geq 98\%$), reagente de Bradford, tributirina 97%, heptadecanoato de metila ($\geq 99\%$), padrões de triacetina ($\geq 99,0\%$), diacetina 99% e glicerol $\geq 99\%$ foram adquiridos da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Óleo de babaçu foi obtido da COPPALJ (Lago do Junco, Maranhão, Brasil). Purolite Lifetech® ECR8806F (Purolite® C18) foi uma doação de Purolite Ltd. (Wales, Reino Unido). Sulfato de cobre, tartarato de potássio, carbonato de sódio, fosfato de sódio, fosfato de potássio monobásico, tiosulfato de sódio, glicerol, álcool etílico, álcool isopropílico, iodeto de potássio e tolueno (Synth – Diadema, SP, Brasil). Hidróxido de potássio (Neon - Suzano, SP, Brasil). Cloreto de sódio, acetona, ácido clorídrico, heptano, iodo cloro seg. Wijs (Êxodo Científica – São Paulo, SP, Brasil).

3.2 Métodos

3.2.1 Concentração de proteínas

A dosagem de proteína foi determinada pela metodologia colorimétrica de Bradford (1976). Albumina de soro bovino foi utilizada como padrão para construção da curva de calibração (concentração em mg/mL vs. absorbância) em concentrações de 0,05 a 1,5 mg/mL. Sucintamente, o método consistia em adicionar 20 μ L da enzima à 1,0 mL do reagente de Bradford incubadas por 5 min e, após agitação, medir as absorbâncias em espectrofotômetro Ultrospec 2000 (Pharmacia Biotech, Uppsala, Suécia) em comprimento de onda de 595 nm. A Eversa® foi diluída 40, 60 e 80 vezes, já a CALB 10, 20 e 40 vezes.

3.2.2 Atividade enzimática

As medidas de atividade enzimática foram realizadas a partir da hidrólise da tributirina, que tem como produto da reação o ácido butírico, de acordo com a metodologia de Beisson et al., (2000), com adaptações. Sucintamente, foram adicionados ao reator 6 mL de solução tampão de fosfato de sódio 0,1 M (pH = 7,5), 16,5 mL de água destilada e 1,5 mL de tributirina, em agitação de 600 rpm a 37 °C. Após 5 min de estabilização do pH em 7,5, foram adicionados 50 µL de enzima e a reação foi monitorada pelo consumo de solução KOH 0,20 M para manter o pH da reação em 7,5, usando um titulador 907 Titrand (Metrohm, Herisau, Suíça).

Para determinar a atividade enzimática, foi construído um gráfico relacionando a quantidade em mols de KOH consumido ao longo do tempo para determinar a velocidade da reação em diferentes concentrações (tanto a Eversa® quanto a CALB foram diluídas 400, 500 e 1000 vezes).

Em um segundo gráfico, em que o eixo das abscissas é o volume de enzima utilizado, em mL, e o eixo das coordenadas é as diferentes velocidades de reação obtidas, em µmol/min, obteve-se como inclinação da reta a atividade enzimática em µmol/min/mL (TBU/mL).

3.2.3 Caracterização do óleo de babaçu

O óleo de babaçu foi caracterizado a partir das metodologias da AOCS - *American Oil Chemists' Society* (2016), de acordo com o índice de acidez (Cd 3d-63), índice de saponificação (Cd 3-65), índice de iodo (Cd 1-25), umidade (Ca 2b-38), densidade (Cc 10a-25) e composição de ácidos graxos por cromatografia (Ce 2-66). A viscosidade foi medida a 35 °C entre 10 e 160 rpm em um reômetro Brookfield (Brookfield DV-III Ultra com banho TC-650, Brookfield Brazil, Rio de Janeiro, Brasil). A massa molar foi estimada a partir da composição dos ácidos graxos do óleo de babaçu (Tabela 9), usando a Equação 1 (SANTOS, 2008):

$$MM_{\text{óleo}} = \frac{\sum(\% \text{molar do ácido graxo} \times MM_{\text{ácido graxo}})}{\sum(\% \text{molar do ácido graxo})} \times 3 + 38,04 \quad (1)$$

3.2.4 Preparo do suporte Purolite® e imobilização enzimática

A Purolite® C18 foi suspensa em metanol na razão 1:5 m/v e mantida sob agitação por 1 hora. Em seguida, adicionou-se água destilada na proporção 1:1 v/v de água e metanol, permanecendo sob agitação por mais 15 minutos. Após esse período, a solução foi filtrada a vácuo e o suporte foi lavado com água destilada em volume 10 vezes maior ao da suspensão inicial (GUIMARÃES et al., 2022).

A enzima Eversa® Transform 2.0 foi imobilizada por adsorção física no suporte Purolite® C18 utilizando solução tampão de fosfato de sódio 5 mM, pH 7, na razão suporte:solução enzimática de 1:10, g/mL). O sistema permaneceu sob agitação suave, à temperatura ambiente, por 6 horas. As cargas enzimáticas avaliadas foram de 1 e 20 mg de enzima por grama de suporte. Amostras do sobrenadante foram coletadas a cada 1 hora para monitoramento da atividade enzimática e da concentração de proteínas. A determinação da concentração de proteína e da atividade foi realizada conforme as metodologias descritas nas seções 3.2.1 e 3.2.2, respectivamente.

Para a carga de 20 mg/g de suporte, 3,43 mL de enzima (preparação enzimática comercial) foram diluídos em 46,57 mL de tampão fosfato de sódio 5 mM, pH 7,0, aos quais foram adicionados 5,0534 g de Purolite® C18. Para a carga de 1 mg/g de suporte, 0,069 mL de enzima foram diluídos em 19,931 mL de tampão, sendo então adicionados 2 g de suporte.

A partir dos valores de atividade enzimática da solução inicial, do sobrenadante final e das soluções de lavagem, foram calculados os seguintes parâmetros de imobilização: rendimento de imobilização (RI) e recuperação de atividade (RA), conforme Equações 2 e 3.

$$RI (\%) = \frac{\text{Atividade teórica imobilizada}}{\text{Atividade oferecida}} \times 100 \quad (2)$$

$$RA (\%) = \frac{\text{Atividade medida da EI}}{\text{Atividade oferecida} \times RI} \times 100 \quad (3)$$

Em que:

Atividade teórica imobilizada

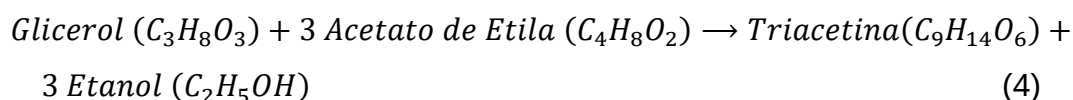
$$= \text{atividade oferecida} - \text{atividade no sobrenadante final} \\ - \text{atividade das soluções de lavagem}$$

Atividade oferecida

$$= \text{atividade da soluções enzimática inicial} \\ \times \text{volume da solução enzimática}$$

3.2.5 Reação de glicerólise entre glicerol e acetato de etila

O experimento foi conduzido em frascos âmbar fechados, mantidos em agitador do tipo shaker a 37 °C, sob agitação de 250 rpm, com monitoramento da reação durante 48 h. Foram utilizados 13 g de glicerol, 1000 TBU de enzima livre e razão molar glicerol:acetato de etila estequiométrica (1:3), conforme mostra a Equação 4:



Após as 48 h de reação, as enzimas foram inativadas em banho de água fervente por 5 min. Em seguida, os meios reacionais foram submetidos à secagem em estufa a 70 °C durante a noite, com o objetivo de evaporar o acetato de etila residual e etanol formado durante a reação. Após a secagem, os meios reacionais foram centrifugados, resultando na formação de duas fases. Foram coletados 30 µL da fase leve, os quais foram diluídos em 2 mL de água Milli-Q. Essa solução foi posteriormente analisada por cromatografia líquida para a quantificação da triacetina, conforme metodologia descrito na seção 3.2.6.

3.2.6 Planejamento Experimental

Para avaliar a influência da razão molar óleo de babaçu:acetato de etila (x_1) e da temperatura (x_2) sobre o rendimento de ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs), foi aplicado um Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR), com duas variáveis independentes, três repetições genuínas em cada ponto axial e fatorial e três pontos centrais, totalizando 27 experimentos (RODRIGUES, 2014).

As variáveis estudadas e seus respectivos níveis reais e codificados estão apresentados na Tabela 5. Os níveis -1 e $+1$ correspondem aos limites da faixa experimental, enquanto $-1,41$ e $+1,41$ representam os pontos axiais.

Tabela 5. Níveis reais e codificados das variáveis estudadas no Delineamento Composto Central Rotacional (DCCR).

Variável	Símbolo	Nível				
		-1,41	-1	0	+1	+1,41
Razão molar (óleo:acetato)	X_1	3,79	10	25	40	46,21
Temperatura (°C)	X_2	25,86	30	40	50	54,14

Os experimentos foram realizados em frascos âmbar fechados, mantidos em agitador do tipo shaker (modelo SL 222, Solab, Piracicaba, SP, Brasil), sob agitação de 250 rpm. Utilizou-se a enzima Eversa® Transform 2.0 imobilizada em Purolite® C18 (carga de 20 mg de proteína por grama de suporte, atividade de 54.396,05 TBU/g), com atividade total no meio reacional de 600 U e 6,5 g de óleo de babaçu.

Os resultados experimentais foram expressos como rendimento relativo de FAEEs (Y , %), calculado com base nas análises realizadas por cromatografia gasosa.

A análise estatística foi conduzida no software *Protimiza Experimental Design*, adotando-se um nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). O modelo proposto foi ajustado por regressão quadrática, conforme a equação geral apresentada a seguir:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 * x_1 + \beta_2 * x_2 + \beta_3 * x_1^2 + \beta_4 * x_2^2 + \beta_5 * x_1 * x_2 \quad (5)$$

A significância dos coeficientes (β) foi avaliada por meio do teste t de Student, e a adequação global do modelo foi verificada por análise de variância (ANOVA), gráfico de Pareto e correlação entre valores experimentais e preditos. Os termos não significativos ($p > 0,05$) foram eliminados, e o modelo reparametrizado.

3.2.7 Reação de interesterificação em reator convencional e micro-ondas

Os ensaios foram realizados em um reator com controle de temperatura por circulação de água e agitação promovida por fluxo em vórtice. O reator apresenta razão de raios ($\eta = R_{\text{interno}}/R_{\text{externo}}$) igual a 0,24 e razão de aspecto ($\Gamma = L(\text{comprimento})/d(\text{diâmetro})$) de 6,72 (RAMOS et al., 2018). As reações foram conduzidas na temperatura definida pelo planejamento experimental descrito na Seção 3.2.6, sob agitação suficiente para garantir a homogeneização do sistema, em torno de 1000 rpm.

O estudo avaliou a reação de interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila, catalisada pela lipase comercial Eversa® Transform 2.0 imobilizada em Purolite® (carregamento de 20 mg de proteína por grama de suporte), considerando diferentes cargas enzimáticas no meio reacional (5%, 10% e 15%, massa de enzima por massa de óleo). As reações foram conduzidas em dois modos de operação: batelada simples e batelada alimentada.

Na batelada alimentada, adotou-se inicialmente uma razão molar óleo:acetato de etila de 1:10 durante as primeiras 48 h de reação. Após esse período, o acetato de etila foi adicionado gradualmente a cada 24 h, mantendo-se uma proporção molar adicional de 1:10 por etapa, até atingir a razão molar máxima de 1:50 em 120 h, totalizando 144 h de reação.

Para fins de comparação, também foram realizadas reações em batelada simples, nas quais a razão molar óleo:acetato de etila de 1:50 foi estabelecida no tempo inicial ($t = 0$ h) e mantida constante ao longo das 144

h de reação. Em ambos os modos operacionais, amostras foram coletadas a cada 24 h. Todas as reações foram realizadas em duplicata, totalizando 12 bateladas reacionais.

Os experimentos em reator de micro-ondas foram conduzidos em um sistema Discover System (Matthews, NC, EUA), utilizando os parâmetros otimizados nos ensaios sob aquecimento convencional. As reações foram realizadas em modo de temperatura controlada, conforme o planejamento experimental descrito na Seção 3.2.6, com tempo total de reação de 6 h. O equipamento operou com monitoramento automático da potência, de modo a manter a temperatura constante ao longo de todo o ensaio.

3.2.8 Caracterização dos ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs)

A quantificação dos FAEEs foi feita por cromatografia gasosa, com base no método EN 14103 (EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION, 2003), utilizando um cromatógrafo Agilent 7890 A (Agilent, Santa Clara, CA, EUA), equipado com detector de ionização de chama (FID). A coluna empregada foi uma HP-INNOWAX (30m x 0,320 mm x 0,25 μ m), da *Agilent Technologies*. Utilizou-se heptano como solvente, heptadecanoato de metila como padrão interno e hélio como o gás de arraste. As amostras (50 mg) foram diluídas em solução contendo 10 mg de heptadecanoato de metila por mL de solvente, e 1 μ L da solução foi injetada no cromatógrafo. A temperatura do forno foi mantida a 210 °C e a do detector a 250 °C. Os resultados foram coletados no software *OpenLab*, por meio da integração das áreas dos picos cromatográficos (MIRANDA et al., 2025).

3.2.9 Quantificação da triacetina

A quantificação de triacetina foi realizada por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC), utilizando um cromatógrafo Waters Alliance e2695 (Waters Co., Milford, CA, EUA) equipado com detector de arranjo de diodos (Photodiode Array, PDA 2998). A separação cromatográfica foi conduzida em

modo isocrático, empregando uma coluna Sunfire C18 (150 mm x 4,6 mm, 5 μ m) da Waters Co. (Milford, CA, EUA), mantida a 25 °C.

A fase móvel foi composta por 85% de água e 15% de acetonitrila, com tempo total de corrida de 25 min. O volume de injeção foi de 20 μ L. A quantificação foi realizada por padronização externa, utilizando triacetina com pureza $\geq 99,0$ % como padrão.

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

4.1 Caracterização das enzimas

As enzimas Eversa[®] Transform 2.0 e lipase B de *Candida antarctica* (CALB) foram caracterizadas quanto à atividade hidrolítica, avaliada pela hidrólise da tributirina, e quanto à concentração de proteínas, determinada pelo método de Bradford. Os resultados obtidos estão apresentados nas Figuras 5 e 6 e nas Tabelas 6 e 7.

As Figuras 5 e 6 apresentam os perfis de velocidades iniciais de hidrólise, expressas em micromoles de ácido butírico liberados por minuto de reação, em função do volume de enzima (em mL). A partir dos coeficientes angulares das retas ajustadas, foram determinadas as atividades hidrolíticas de 110.032 ± 5.408 TBU/mL para a Eversa[®] Transform 2.0 e de 74.009 ± 1.376 TBU/mL para a CALB.

Figura 5. Perfil de velocidade inicial de hidrólise de tributirina ($\mu\text{mol}/\text{min}$) catalisada pela Eversa[®] Transform 2.0, a 37°C e pH 7,5, em função do volume de enzima (mL).

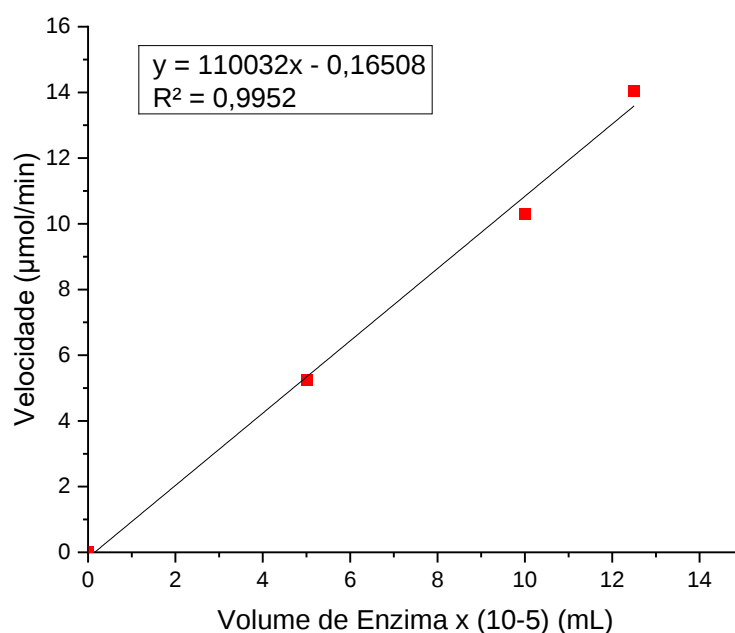
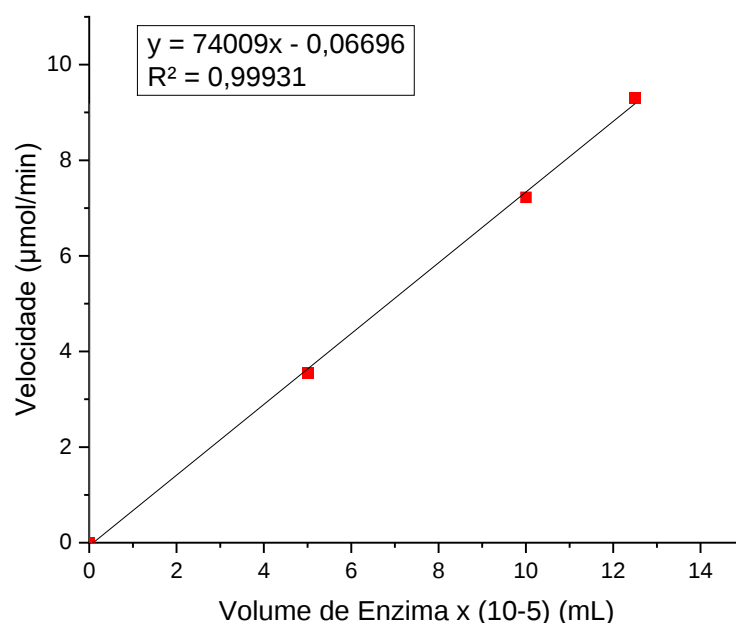


Figura 6. Perfil de velocidade inicial de hidrólise de tributirina ($\mu\text{mol}/\text{min}$) catalisada pela lipase B de *Candida antarctica* (CALB), a 37°C e pH 7,5, em função do volume de enzima (mL).



A concentração de proteínas foi determinada a partir da curva padrão construída com albumina do soro bovino, descrita pela equação $A_{595\text{nm}} = 0,6285 \times C_P + 0,0307$. Com base nos dados apresentados nas Tabelas 6 e 7, obtiveram-se concentrações médias de $29,19 \pm 2,16 \text{ mg/mL}$ para a Eversa[®] Transform 2.0 e de $21,82 \pm 1,85 \text{ mg/mL}$ para a CALB.

Apesar da Eversa[®] apresentar maior atividade hidrolítica volumétrica em comparação à CALB, as atividades específicas das enzimas mostraram-se semelhantes, com valores de 3.769,51 TBU/mg para a Eversa[®] Transform 2.0 e 3.391,80 TBU/mg para a CALB. Essa similaridade está associada ao fato da tributirina ser um substrato de cadeia curta (C4), o que favorece a ação de diferentes lipases. No entanto, esse comportamento não necessariamente reflete o desempenho das enzimas em reações envolvendo triglicerídeos de cadeia longa ou na reação de interesse deste trabalho, a interesterificação. Dessa forma, a eficiência catalítica das enzimas será avaliada posteriormente nas condições reacionais específicas do processo estudado.

Tabela 6. Concentração de proteínas da Eversa® Transform 2.0 determinada pelo método de Bradford.

Fator de diluição	Absorbância média $\pm$ s.d.	Concentração de proteínas (mg/mL)
40	0,455 $\pm$ 0,020	27,00
60	0,337 $\pm$ 0,024	29,24
80	0,276 $\pm$ 0,008	31,32

Tabela 7. Concentração de proteínas da lipase B de *Candida antarctica* (CALB) determinada pelo método de Bradford.

Fator de diluição	Absorbância média $\pm$ s.d.	Concentração de proteínas (mg/mL)
10	0,293 $\pm$ 0,002	20,02
20	0,164 $\pm$ 0,004	21,73
40	0,095 $\pm$ 0,001	23,72

4.2 Caracterização do óleo de babaçu

A Tabela 8 apresenta os valores experimentais das propriedades físico-químicas do óleo de babaçu. Observa-se que a densidade relativa, o índice de iodo, o índice de saponificação e a viscosidade apresentaram concordância superior a 95% em relação aos valores previamente reportados em fichas técnicas comerciais (EMFAL, 2018).

O índice de acidez, por sua vez, apresentou valor aproximadamente três vezes superior ao valor reportado nas fichas técnicas (máximo de 0,500 mg KOH/g). Essa variação pode ser atribuída às diferenças na origem da matéria-prima, no método de extração e nas condições de armazenamento do óleo. No entanto, esse maior teor de ácidos graxos livres não representa uma limitação para a catálise enzimática, ao contrário do que ocorre em processos catalisados por bases, nos quais esse parâmetro favorece reações indesejadas, como a saponificação (KUSUMANINGTYAS et al., 2022).

A umidade relativa do óleo apresentou valor reduzido (cerca de 1%), condição considerada adequada para a reação de interesterificação, uma vez que teores elevados de água podem favorecer reações de hidrólise dos triglicerídeos, reduzindo a formação de ésteres (USAI et al., 2010).

Tabela 8. Propriedades físico-químicas do óleo de babaçu.

Propriedade físico-química	Valor médio ± s.d	Ficha técnica^a
Densidade (g/mL)	0,91 ± 0,16	Entre 0,9050 e 0,9150
Umidade relativa (%)	1,06 ± 0,15	No máximo 0,100%
Índice de acidez (mgKOH/g)	1,34 ± 0,01	No máximo 0,500
Índice de saponificação (mgKOH/g)	255,53 ± 18,61	Entre 240,00 e 253,00
Índice de iodo (mgI ₂ /g)	16,16 ± 2,35	Entre 14,00 e 17,00
Viscosidade (35°C) (cP)	31,74 ± 0,05	-
Massa molar (g/mol) ^b	693,76 ± 0,70	700,35

^a (EMFAL, 2018).

Conforme apresentado na Tabela 9, o óleo de babaçu é predominantemente constituído por ácido láurico (C12), que representa cerca de 44% de sua composição. Além deste, destacam-se o ácido mirístico (C14), com aproximadamente 16%, e o ácido oleico (C18:1), com aproximadamente 12%. Esses valores estão em consonância com dados técnicos disponíveis na literatura, que indicam faixas de 40% e 55% para o ácido láurico, de 11% a 27% para o ácido mirístico e de 9% a 20% para o ácido oleico (CAMPESTRE, s.d.).

Tabela 9. Composição de ácidos graxos do óleo de babaçu.

Ácido graxo	Composição (% m/m)
Ácido capróico (C6)	0,57
Ácido caprílico (C8)	6,90
Ácido cáprico (C10)	5,85
Ácido undecanóico (C11)	0,03
Ácido láurico (C12)	43,65
Ácido tridecanóico (C13)	0,04
Ácido mirístico (C14)	15,91
Ácido palmítico (C16)	8,73
Ácido palmitoleico (C16:1)	0,03
Ácido heptadecanóico (C17)	0,03

Ácido esteárico (C18)	3,68
Ácido oleico (C18:1 cis)	12,22
Ácido linoleico (C18:2)	1,88
Ácido Octadecadienóico (C18:2 trans)	0,12
Ácido araquídico (C20)	0,07
Ácido linolênico (C18:3 gamma)	0,24
Ácido gadolínico (C20:1 cis)	0,05

Ressalta-se ainda que o óleo de babaçu é composto majoritariamente por ácidos graxos saturados, representando cerca de 85% de sua composição. Essa característica confere elevada estabilidade oxidativa ao biodiesel produzido, tornando o óleo de babaçu uma matéria-prima promissora para a síntese de ésteres etílicos (PRIEBE et al., 2024).

4.3 Rendimento de triacetina a partir da glicerólise com acetato de etila

Este estudo teve como objetivo avaliar o desempenho catalítico das duas lipases selecionadas, Eversa[®] Transform 2.0, uma variante de lipase de *Thermomyces lanuginosus*, e a lipase B de *Candida antarctica* (CALB), na síntese de triacetina, por meio da reação entre glicerol e acetato de etila. Essas lipases foram selecionadas por serem amplamente empregadas em processos de biocatálise e apresentarem elevado potencial catalítico em reações de esterificação e transesterificação (ZHAO et. al, 2015; LI et al., 2023; ZHANG et al., 2025; LISH, 2025).

Optou-se pela utilização do glicerol como substrato na etapa de seleção enzimática por este constituir a estrutura central dos triglicerídeos presentes no óleo de babaçu. Além disso, a eficiência dessas enzimas em reações de transesterificação de óleos e gorduras com etanol ou metanol encontra-se amplamente documentada na literatura (YANG, 2009; TONGBORIBOON, 2010; YASVANTHRAJAN, 2025). Dessa forma, a eficiência catalítica das lipases foi avaliada por meio de uma reação de transesterificação direta entre glicerol e acetato de etila, permitindo evidenciar

a capacidade das enzimas em acilar a molécula de glicerol nas posições *sn*-1, *sn*-2 e *sn*-3 (KAPOOR; GUPTA, 2012).

Os resultados apresentados na Tabela 10 indicam que a Eversa® apresentou desempenho superior na formação de triacetina, alcançado uma concentração média de $24,321 \pm 2,748$ g/L, enquanto a CALB atingiu $12,328 \pm 1,042$ g/L. Com base nesses resultados, a Eversa® foi selecionada para as etapas subsequentes do estudo, nas quais será avaliada a síntese simultânea de ésteres etílicos e acetinas por meio da interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila.

Tabela 10. Concentração de triacetina após 48 h de reação entre glicerol e acetato de etila (razão molar 1:3), a 37°C e 250 rpm, em agitador do tipo shaker

Lipase	Concentração de triacetina (g/L)
	Média $\pm$ s.d.
Eversa®	$24,321 \pm 2,748$
CALB	$12,328 \pm 1,042$

4.4 Imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0

Após 6 horas de de imobilização da lipase Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18, sob condições controladas de temperatura (25°C) e pH (7,0, tampão fosfato de sódio 5 mM), utilizando cargas proteicas de 20 mg/g e 1 mg/g de suporte, constatou-se que a adsorção máxima da enzima havia sido alcançada. Essa conclusão baseou-se na estabilização dos valores de atividade enzimática e de concentração de proteínas no sobrenadante da reação, conforme ilustrado nas Figuras 7 e 8.

A Tabela 11 apresenta os parâmetros de imobilização obtidos para ambas as cargas enzimáticas avaliadas.

Figura 7. Perfil de imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), razão suporte/solução enzimática de 1:10 (m/v), carga proteica oferecida de 20 mg/g de suporte. (■) Atividade enzimática e (■) concentração de proteínas do sobrenadante da imobilização

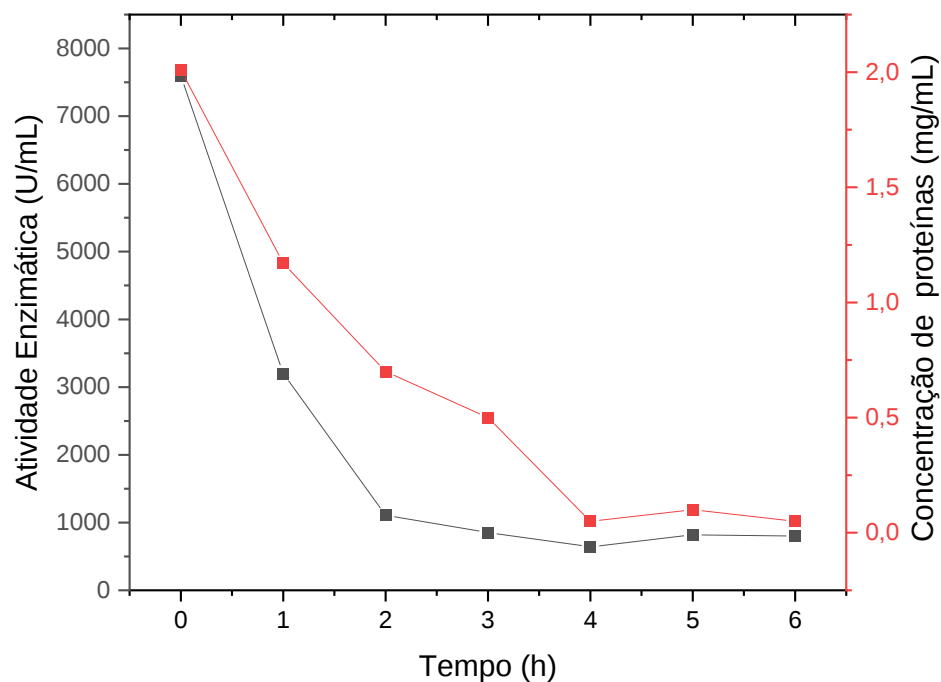


Figura 8. Perfil de imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), razão suporte/solução enzimática de 1:10 (m/v), carga proteica oferecida de 1 mg/g de suporte. (■) Atividade enzimática e (■) concentração de proteínas do sobrenadante da imobilização

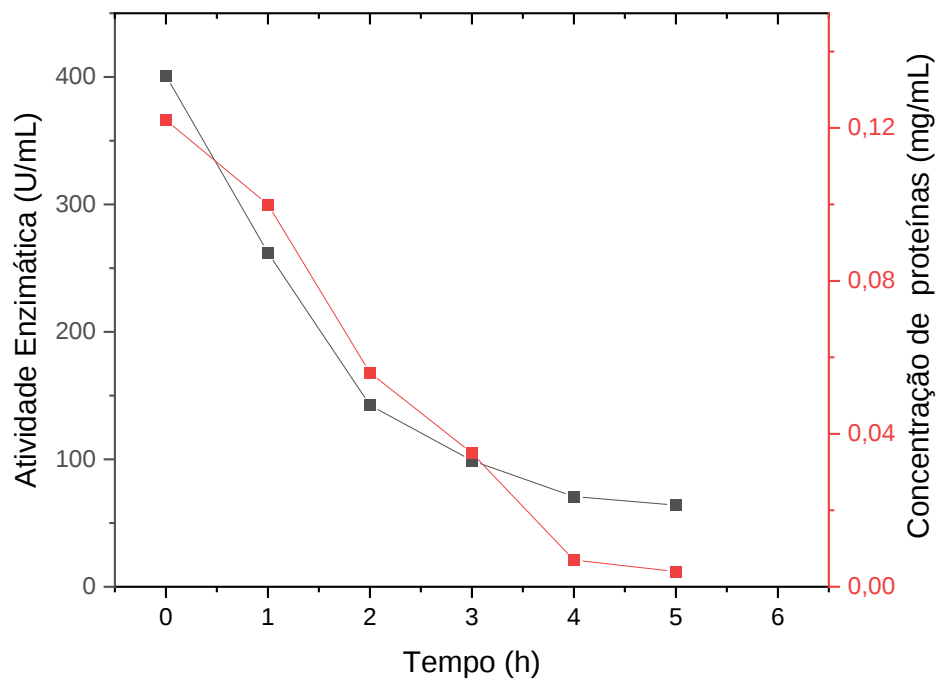


Tabela 11. Resultados da imobilização da Eversa® Transform 2.0 em Purolite® C18 a 25°C, pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mM), para cargas oferecidas de 20 e 1 mg de proteína por grama de suporte.

Parâmetro	Carregamento (mg proteína/g suporte)	
	20	1
Atividade oferecida (TBU/g)	75.117,74	4.010,50
Atividade no sobrenadante final (TBU/g)	8.667,43	762,85
Atividade nas soluções de lavagem (TBU/g)	12.054,26	0
RI (%), Eq. (2)	72,41	80,98
Atividade teórica imobilizada (TBU/g de suporte)	54.396,05	3.247,65
Atividade experimental (TBU/g)	11.900,00	3.160,00
RA (%), Eq. (3)	21,88	97,30

Para a carga oferecida de 20 mg de proteína por grama de suporte, obteve-se um rendimento de imobilização (RI) de 72,41%, resultando em uma atividade hidrolítica teórica de 54.396,05 TBU/g de suporte, calculada conforme descrito na Seção 3.2.2. No entanto, a atividade experimental determinada para a enzima imobilizada foi de 11.900 TBU/g, o que corresponde a uma recuperação aparente de atividade (RA) de 21,88%. A diferença expressiva entre a atividade teórica e a experimental pode ser atribuída principalmente à resistência difusional intrapartícula, que limita o acesso do substrato aos sítios ativos da enzima, reduzindo a atividade catalítica aparente, e não necessariamente à inativação da enzima durante o processo de imobilização.

Quando a imobilização foi realizada sob as mesmas condições de temperatura e pH, porém com carga proteica baixa (1 mg/g de suporte), observou-se um RI de 80,98 %. Nessas condições, as atividades teórica e experimental foram de 4.010,5 TBU/g e 3.247,65 TBU/g, respectivamente, resultando em uma recuperação de atividade de 97,30%. Esses resultados indicam que, em baixas cargas enzimáticas, os efeitos de resistência difusional são significativamente minimizados, favorecendo uma maior eficiência catalítica do biocalisador imobilizado.

Apesar da maior recuperação de atividade observada em baixa carga enzimática, os experimentos subsequentes foram conduzidos utilizando alta carga de enzima. Essa escolha deve-se ao fato de que, mesmo com maior

influência da resistência difusional, a elevada atividade global obtida nessa condição resulta em maior produtividade do processo, o que é particularmente relevante visando aplicações em escala industrial.

4.5 Análise estatística e determinação da temperatura ideal

A reação de interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila foi otimizada em termos de rendimento de ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs) usando DCCR, considerando a temperatura e a razão molar acetato de etila:óleo de babaçu como variáveis independentes. Os valores de rendimento de FAEEs (Y, %) obtidos nas diferentes condições experimentais do DCCR, expressos em termos reais e codificados, estão apresentados na Tabela 12.

Os rendimentos variaram de 5,40 a 15,91%, sendo o maior valor observado no ponto central do planejamento, correspondente à temperatura de 40°C e à razão molar acetato de etila:óleo de babaçu de 25:1, com rendimento médio de $15,09 \pm 0,63\%$.

Os dados experimentais foram ajustados por regressão quadrática, resultando no modelo empírico expresso em termos de variáveis codificadas, conforme a Equação (6):

$$Y = 15,09 + 0,55 \times x_1 - 1,77 \times x_2 - 2,54 \times (x_1)^2 - 3,31 \times (x_2)^2 \quad (6)$$

A análise de significância dos coeficientes indicou que todos os termos lineares e quadráticos foram estatisticamente significativos ($p < 0,05$), com exceção do termo de interação $x_1 \cdot x_2$ ($p = 0,0646$), o qual foi removido do modelo final. Esse resultado indica que, dentro da faixa experimental estudada, a razão molar e a temperatura atuam de forma independente sobre o rendimento de FAEEs.

Tabela 12. Valores codificados (x_1 e x_2) e reais (X_1 e X_2) para as variáveis estudadas no planejamento experimental e as respostas em rendimento de FAEEs (Y).

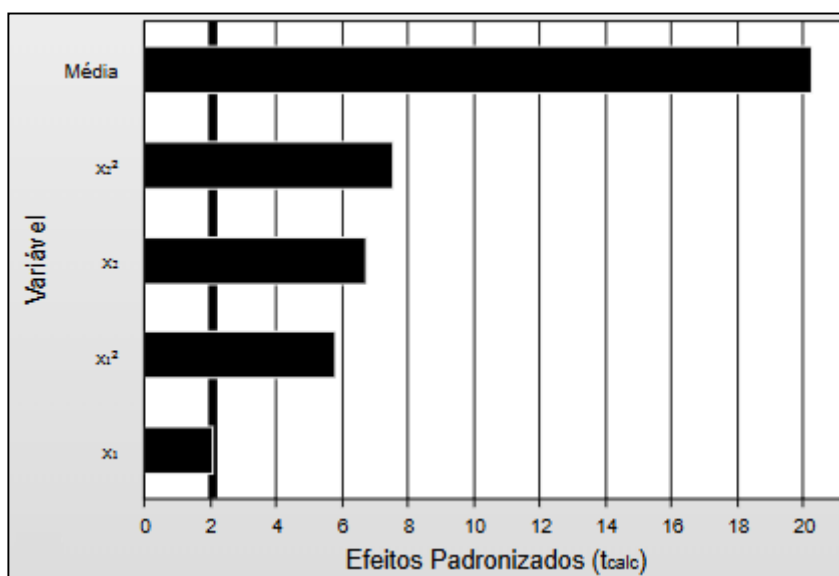
Ensaio	x_1	x_2	X_1 (mol acetato)	X_2 (°C)	Y (%)
1	-1	-1	10	30	12,25
2	-1	-1	10	30	12,69
3	-1	-1	10	30	11,51
4	1	-1	40	30	10,06
5	1	-1	40	30	10,77
6	1	-1	40	30	9,53
7	-1	1	10	50	6,35
8	-1	1	10	50	6,53
9	-1	1	10	50	7,15
10	1	1	40	50	7,83
11	1	1	40	50	8,0
12	1	1	40	50	6,31
13	-1,41	0	4	40	8,95
14	-1,41	0	4	40	7,43
15	-1,41	0	4	40	8,04
16	1,41	0	46	40	11,36
17	1,41	0	46	40	12,88
18	1,41	0	46	40	12,40
19	0	-1,41	25	26	10,30
20	0	-1,41	25	26	10,94
21	0	-1,41	25	26	10,97
22	0	1,41	25	54	5,40
23	0	1,41	25	54	7,19
24	0	1,41	25	54	7,09
25	0	0	25	40	15,91
26	0	0	25	40	15,0
27	0	0	25	40	14,37

O gráfico de Pareto (Figura 9) evidenciou que a temperatura (x_2) e o termo quadrático da (x_2^2) apresentaram os maiores efeitos sobre a resposta,

seguidos pelo termo quadrático da razão molar (x_1^2), enquanto o efeito linear da razão molar (x_1) foi menos pronunciado. Esses resultados confirmam que a temperatura é a variável mais relevante na formação de FAEEs, comportamento coerente com a cinética e a estabilidade térmica de lipases.

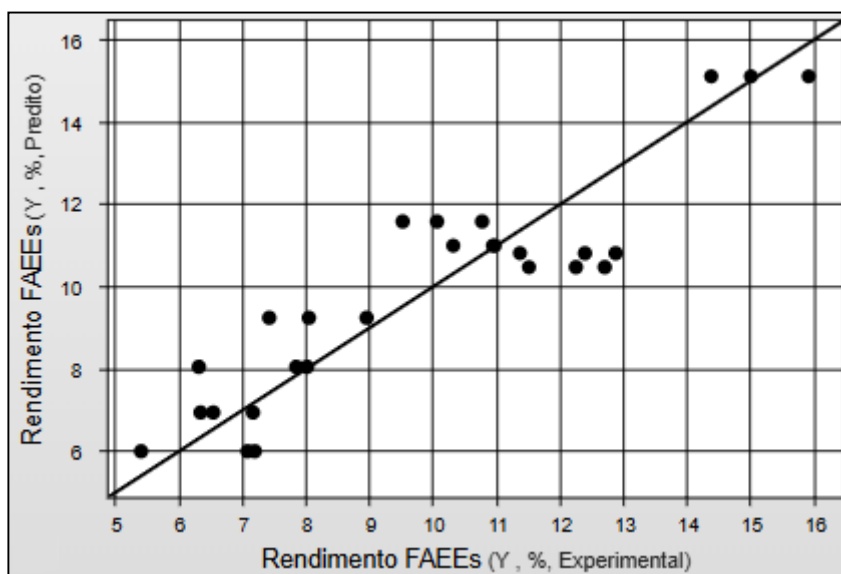
De fato, Miranda et al. (2020) reportam que a Eversa® Transform 2.0 livre apresenta atividade máxima na hidrólise de tributirina na faixa de 35 a 50 °C, com redução significativa da atividade a 60°C (cerca de 20%). De modo semelhante, Alexandre et al. (2022) observaram temperatura ótima de 40 °C na produção de biodiesel por esterificação de ácidos graxos livres do óleo de babaçu com metanol catalisada por Eversa® Transform 2.0, com queda acentuada da conversão de 58,79 % a 40 °C para 2,80 % a 55 °C, atribuída à desnaturação térmica da enzima.

Figura 9. Gráfico de Pareto dos efeitos estatisticamente significativos do DCCR para o rendimento de FAEEs.



O gráfico de correlação entre os valores experimentais e os valores preditos pelo modelo (Figura 10) apresentou boa concordância, com tendência linear positiva e ausência de outliers relevantes, indicando adequada capacidade preditiva do modelo dentro da região experimental avaliada.

Figura 10. Correlação entre os valores experimentais e os valores preditos pelo modelo para o rendimento de FAEEs.



A análise de variância (ANOVA), apresentada na Tabela 13, demonstrou que o modelo é estatisticamente significativo ($F_{calc} = 27,1 > F_{crit} \approx 2,8$; $p < 0,05$), com coeficiente de determinação $R^2 = 83,15\%$, indicando que aproximadamente 83% da variabilidade dos dados experimentais foi explicada pelo modelo. Embora o teste de falta de ajuste tenha sido significativo ($p = 0,00004$), esse resultado pode ser atribuído ao baixo erro puro observado (0,5), tornando o teste excessivamente sensível a pequenas variações experimentais.

Tabela 13. ANOVA do planejamento experimental DCCR para o rendimento de ésteres etílicos de ácidos graxos (FAEEs)

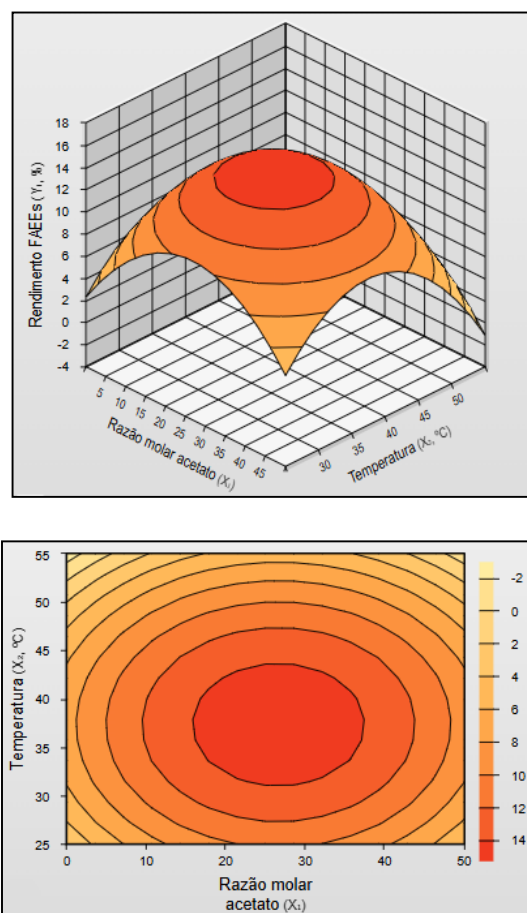
Fonte de variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F_{calc}	p-valor
Regressão	180,3	4	45,1	27,1	0,00000
Resíduos	36,5	22	1,7	-	-
Falta de Ajuste	27,1	4	6,8	12,9	0,00004
Erro Puro	9,5	18	0,5	-	-
Total	216,8	26	-	-	-

A superfície de resposta (Figura 11) indica uma região ótima correspondente a temperaturas entre 31 e 43 °C e razões molares entre 1:16 e 1:37, com ponto máximo estimado em cerca de 38 °C e razão molar de 1:26.

Inicialmente, o planejamento experimental também teve como objetivo avaliar o rendimento de triacetina em condições de alta razão molar, buscando identificar uma faixa operacional que favorecesse simultaneamente a formação de ésteres etílicos e acetinas. Embora seja possível obter rendimentos elevados FAEEs com razões molares significativamente menores, a ampliação da faixa estudada foi necessária para viabilizar a otimização conjunta com a triacetina, uma vez que razões molares mais elevadas favorecem a formação de acetinas (NETO, 2024).

Entretanto, não foi possível quantificar a triacetina neste conjunto de experimentos, restringindo a análise estatística à variável resposta de rendimento de FAEEs. Assim, optou-se por adotar apenas a temperatura ótima estimada (38 °C) como parâmetro operacional, a qual foi empregada nos experimentos subsequentes realizados no reator com aquecimento convencional e agitação por fluxo em vórtice.

Figura 11. Superfícies de resposta do rendimento de FAEEs em função da razão molar e da temperatura



4.6 Reação de interesterificação de óleo de babaçu com acetato de etila em reator com agitação do tipo fluxo em vórtice e aquecimento convencional

A reação de interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila foi conduzida a 38 °C, utilizando a enzima Eversa® Transform 2.0 imobilizada em Purolite® C18 (11.900 TBU/g, atividade determinada experimentalmente). O acetato de etila foi adicionado de forma gradual (reator operado em modo batelada alimentada), aumentando-se a razão molar em incrementos de 1:10 a cada 24 h. As cargas enzimáticas empregadas no reator variaram de 5 %, 10 % e 15 % (massa de enzima por massa de óleo de babaçu). Os perfis de produção de FAEEs e acetinas são mostrados na Figura 12.

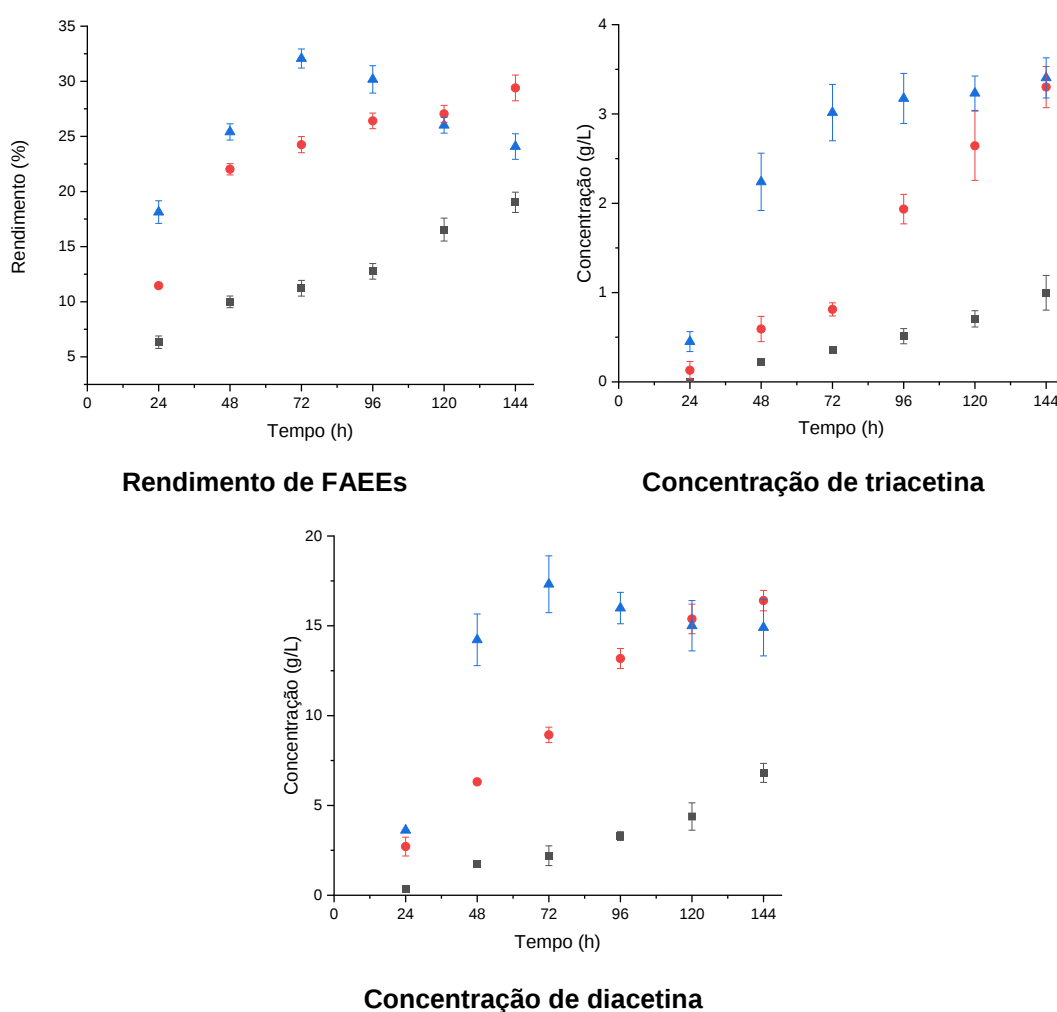
Com 5% de enzima, o rendimento de FAEEs aumentou de 6,33 % em 24 h para 19,03 % em 144 h, enquanto a concentração de triacetina aumentou lentamente até 0,998 g/L no mesmo período. A diacetina aumentou mais rapidamente, atingindo 6,814 g/L em 144 h. Esse comportamento era esperado, pois pela cinética de acetilação do glicerol, triacetina requer um tempo de reação prolongado para atingir produção máxima. A baixa concentração de biocatalisador provavelmente limitou a velocidade global da reação e o avanço das etapas sequenciais de acetilação.

Com 10% de enzima, os rendimentos aumentaram significativamente. O rendimento de FAEEs aumentou de 11,46 % (24 h) para 29,40% (144 h), enquanto as concentrações de triacetina e diacetina atingiram 3,301 g/L e 16,403 g/L, respectivamente. Nesse caso, a maior disponibilidade de sítios ativos catalíticos favoreceu a formação dos produtos. Contudo, o aumento de diacetina ao longo do tempo indica que este intermediário ainda estava sendo formado em maior proporção do que consumido para gerar triacetina, embora tenha apresentado tendência de estabilização após 120 h.

Nos experimentos conduzidos com 15% de enzima, observou-se o melhor desempenho catalítico do sistema. O rendimento relativo de FAEEs atingiu seu valor máximo de 32,07% em 72 h, assim como a produção de acetinas (di- e triacetinas igual a 18,33 g/L). Após esse período, a produção simultânea de FAEEs e acetinas é desfavorecida, com redução do rendimento de ésteres e da concentração de acetinas (di- e triacetina) para 24,08% e

13,06 g/L, respectivamente. O aumento na concentração de triacetina, de aproximadamente 1,2 vezes (de 3,02 para 3,60 g/L), não justifica um aumento no tempo de reação de 72 a 144 h, devido à grande redução da produtividade, de 0,0419 g L⁻¹ h⁻¹ (em 48 h) para 0,0250 g L⁻¹ h⁻¹ (em 144 h).

Figura 12. Efeito da carga enzimática ((■) 5, (●) 10 e (▲) 15 %, massa de enzima/massa de óleo de babaçu) na interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila a 38°C, catalisada por Eversa[®] imobilizada em Purolite[®] C18, ao longo do tempo em reator agitado e aquecimento convencional (adição gradual de acetato de etila até razão molar óleo/acetato de 1:50)



Comparando os perfis de produção de FAEEs e acetinas, observa-se que o aumento da carga enzimática influenciou não apenas a taxa de conversão, mas também o perfil de formação e consumo dos produtos intermediários. Em cargas menores, a limitação de sítios catalíticos restringiu

o avanço das reações de interesse, resultando em baixos rendimentos de FAEEs e acúmulo de diacetina, que atuou como intermediário estável ao longo do tempo. À medida que a quantidade de enzima aumentou, a reação tornou-se mais eficiente, com maior velocidade inicial de formação de FAEEs e maior conversão de diacetina em triacetina, refletindo o avanço da reação sequencial de acetilação do glicerol. Entretanto, nas maiores cargas, observou-se que a reação atingiu o equilíbrio mais rapidamente, levando à estabilização dos produtos e até a uma redução do rendimento de FAEEs após o ponto máximo. Esse comportamento sugere que o acréscimo da concentração de enzima no reator acelera a velocidade da reação, aproximando-a do equilíbrio termodinâmico (CANDURI, s.d.) em menor tempo de reação e aumentando a produtividade dos produtos desejados (FAEEs e triacetina).

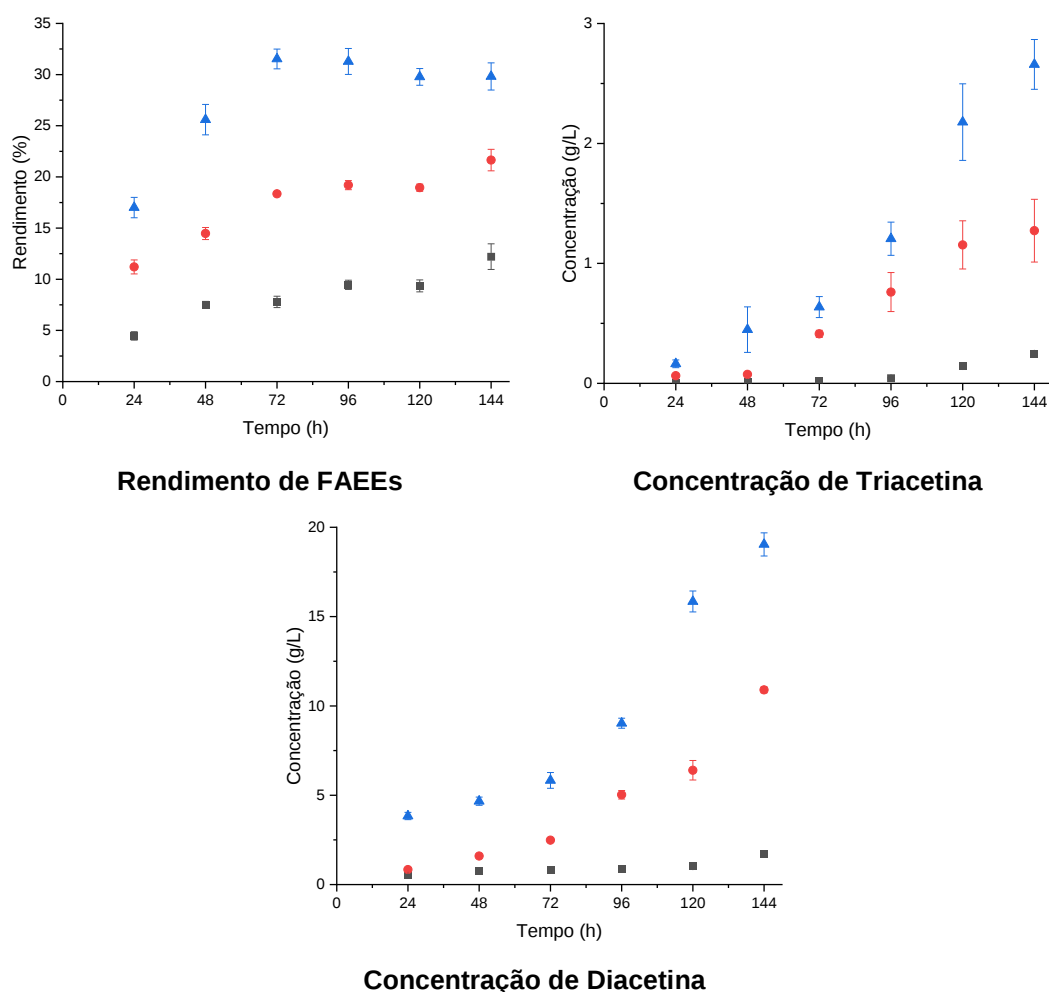
Nos experimentos em batelada simples (razão molar óleo de babaçu:acetato de etila de 1:50), a carga enzimática também influenciou de forma expressiva o comportamento do sistema (Figura 13). Com 5% de enzima, o rendimento de FAEEs atingiu 12,21% em 144 h, enquanto a triacetina e a diacetina apresentaram valores baixos, de 0,248 g/L e 1,715 g/L, respectivamente. Nessa condição, a alta concentração de acetato de etila desde o início da reação não favoreceu a formação de produtos. De acordo com Sousa et al. (2021), o excesso de solvente pode diluir o meio reacional e alterar a partição dos substratos, sem necessariamente causar a inativação da enzima. Assim, a diluição excessiva dificultou o contato efetivo entre a enzima e o substrato, limitando o avanço da reação e mantendo baixos rendimentos de produtos.

Com 10% de enzima, obteve-se um aumento do rendimento de FAEEs (21,64% em 144 h), com maiores concentrações de triacetina (1,273 g/L) e diacetina (10,898 g/L). Apesar do desempenho superior em relação à menor carga, a concentração de triacetina foi menor do que a obtida com razão molar variável (adição gradual de acetato de etila).

Com 15% de enzima, o rendimento de FAEEs atingiu 31,53% em 72 h e manteve-se estável em torno de 30% até 144 h. A concentração de triacetina aumentou de 0,163 g/L (em 24 h) para 2,659 g/L (em 144 h), e a diacetina de 3,839 g/L para 19,041 g/L. A produtividade de diacetina permaneceu estável

entre 72 e 144 h ($\sim 0,12 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$), enquanto a produtividade de triacetina aumentou aproximadamente duas vezes, de $0,0088 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (em 72 h) para $0,0185 \text{ g L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (144 h).

Figura 13. Efeito da carga enzimática ((■) 5, (●) 10 e (▲) 15 %, massa de enzima/massa de óleo de babaçu) na interesterificação do óleo de babaçu com acetato de etila a 38°C, catalisada por Eversa® imobilizada em Purolite® C18, ao longo do tempo em reator agitado e aquecimento convencional (adição única de acetato de etila, razão molar óleo/acetato de 1:50).



A comparação entre os dois modos de adição de acetato de etila mostrou que, independentemente da carga enzimática, os rendimentos de FAEEs foram semelhantes, especialmente para 10% e 15% de enzima. Isso indica que, em ambos os casos, houve excesso de reagente suficiente para deslocar o equilíbrio no sentido dos produtos, confirmando que a formação de biodiesel não requer razões molares extremamente elevadas. Por outro lado,

a produção de triacetina foi significativamente maior na condição de adição gradual de acetato de etila, especialmente com 15% de enzima, sugerindo que o fornecimento gradual de acetato de etila favoreceu a cinética de acetilação do glicerol.

De acordo com Neto (2024), maiores concentrações molares de acetato favorecem o rendimento de triacetina; os resultados deste estudo complementam essa observação, demonstrando que a etapa final de acetilação (diacetina $\rightarrow$ triacetina) depende não apenas da quantidade total de acetato presente, mas também do modo e do momento em que o reagente é disponibilizado.

Esses resultados estão de acordo com o planejamento experimental realizado no Protimiza, que indicou como região ótima de operação uma faixa de razão molar entre 1:16 e 1:37, incluindo a razão 1:20. No experimento com adição gradual de acetato de etila, essa razão foi atingida após 48 h, período em que se observou aumento expressivo nos rendimentos de FAEEs e na formação de acetinas.

Assim, o ponto de 72 h, com 15% de enzima e adição gradual de acetato de etila, foi identificado como a melhor condição experimental, apresentando o maior rendimento de FAEEs e a melhor produtividade de triacetina. Esta condição foi selecionada para cálculos de rendimentos da reação a partir de dados experimentais de interesterificação de óleo de babaçu e acetato de etila sem amostragens ao longo do tempo.

4.7 Rendimentos da reação de interesterificação de óleo de babaçu e acetato de etila

Os experimentos realizados nas melhores condições identificadas anteriormente (15% de enzima, adição gradual de acetato de etila e 72 h de reação a 38 °C) apresentaram rendimentos médios de $53,83 \pm 1,09$ % de FAEEs, $2,10 \pm 0,02$ % de triacetina e $6,45 \pm 0,34$ % de diacetina, conforme apresentado na Tabela 14.

Quando a reação foi conduzida nas mesmas condições, mas em reator com aquecimento por micro-ondas, com tempo total de 6 h e aumento gradual da razão molar óleo:acetato proporcional ao período convencional (4 h

equivalente a 48 h no sistema convencional), os rendimentos médios foram de $57,58 \pm 1,47$ % de FAEEs, $3,53 \pm 0,16$ % de triacetina e $6,29 \pm 0,51$ % de diacetina, conforme também apresentado na Tabela 14.

Tabela 14. Rendimentos da interesterificação de óleo de babaçu e acetato de etila catalisada por Eversa® imobilizada em Purolite® C18 em reatores agitados e diferentes modos de aquecimento

Produto	Rendimento Médio $\pm$ s.d. (%)	
	Aquecimento convencional, 72 h de reação	Aquecimento micro-ondas, 6 h de reação
FAEEs	$53,83 \pm 1,09$	$57,58 \pm 1,47$
Triacetina	$2,10 \pm 0,02$	$3,53 \pm 0,16$
Diacetina	$6,45 \pm 0,34$	$6,29 \pm 0,51$

Condições de reação: temperatura de 38°C, adição gradual de acetato de etila, carga enzimática de 15% em relação à massa de óleo de babaçu (utilizada 6 g).

Dessa forma, a cada 100 kg de óleo de babaçu, formam-se 53,83 kg de FAEEs e 2,10 kg de triacetina no reator convencional (após 72 h de reação), e 57,58 kg de FAEEs e 3,53 kg de triacetina no reator de micro-ondas (após apenas 6 h de reação).

Os resultados demonstram que o uso do reator de micro-ondas permitiu alcançar conversões semelhantes às obtidas no sistema convencional em um tempo aproximadamente doze vezes menor, evidenciando o efeito positivo da irradiação micro-ondas na intensificação do processo de interesterificação. Ainda assim, os rendimentos obtidos neste estudo permaneceram inferiores aos relatados em outros trabalhos de produção de biodiesel por catálise enzimática. Por exemplo, Panadare & Rathod (2016) obtiveram um rendimento de FAEEs 94% em 4 h por irradiação por micro-ondas, enquanto Du et al. (2004) obtiveram 92% em 14 h, ambos utilizando lipase Novozym 435. Em comparação, Kusumumaningtyas et al. (2022), que realizaram reação de interesterificação com Eversa® 2.0 com acetato de etila, obtiveram rendimento de aproximadamente 42%, inferior ao valor deste estudo.

Sendo assim, estudos devem ser realizados para avaliar a eficácia da Eversa® em reações de interesterificação. Devido à alta eficiência da lipase 435, uma coimobilização pode ser interessante para obter rendimentos maiores, bem como a análise do acetato utilizado.

5 CONCLUSÃO

Este trabalho avaliou a coprodução de biodiesel e triacetina por meio da interesterificação enzimática do óleo de babaçu com acetato de etila, utilizando a lipase Eversa® Transform 2.0 imobilizada em Purolite® C18, como uma alternativa sustentável à rota convencional de transesterificação. A abordagem mostrou-se inovadora ao integrar a valorização de coprodutos e o uso de matérias-primas renováveis, atendendo às demandas atuais por processos ambientalmente responsáveis.

Os resultados indicam que a rota de interesterificação enzimática é tecnicamente viável e apresenta comportamento reacional consistente sob condições operacionais otimizadas. Embora os rendimentos em ésteres etílicos de ácidos graxos não tenham atingido valores típicos para biodiesel comercial, a formação simultânea de triacetina evidencia o potencial do processo para gerar um coproduto de maior valor agregado, capaz de atuar como bioaditivo e agregar funcionalidade ao combustível final.

A utilização do acetato de etila mostrou-se promissora, favorecendo a estabilidade da enzima e contribuindo para a obtenção de um combustível com propriedades diferenciadas. A comparação entre os sistemas de aquecimento demonstrou que o uso de micro-ondas permite alcançar rendimentos comparáveis aos do aquecimento convencional em tempos significativamente menores, reforçando o potencial dessa estratégia para a intensificação da reação.

Assim, apesar das limitações do estágio atual de desenvolvimento da tecnologia, a abordagem proposta mostrou-se satisfatória, relevante e com elevado potencial de aprimoramento. Para trabalhos futuros, recomenda-se investigar estratégias adicionais de otimização, incluindo:

- Identificação e superação de etapas cinéticas limitantes;
- Avaliação de diferentes sistemas de imobilização e lipases com afinidade por óleos ricos em ácidos graxos de cadeia média;
- Exploração de solventes e condições alternativas capazes de maximizar a eficiência global do processo.

Essas ações poderão contribuir para o avanço de rotas enzimáticas sustentáveis na produção de biocombustíveis, agregando valor aos produtos e promovendo soluções mais ambientalmente responsáveis.

6 REFERÊNCIAS

ADLERCREUTZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media. **Chemical Society Reviews**. 42, p. 6406-6436, 2013. doi: 10.1039/C3CS35446F.

AGARWAL, A. K.; GUPTA, T.; KOTHARI, A. Particulate emissions from biodiesel vs diesel fuelled compression ignition engine. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 15, 3278-3300, 2011. doi: 10.1016/j.rser.2011.04.002.

AGÊNCIA DE NOTÍCIAS DA INDÚSTRIA. **Brasil e a dependência das rodovias: desafios e caminhos para investimentos**, 30 dez. 2024. Disponível em: <<https://noticias.portaldaindustria.com.br/noticias/infraestrutura/brasil-e-a-dependencia-das-rodovias-desafios-e-caminhos-para-investimentos/>>. Acesso em: 15 mar. 2025.

AGÊNCIA GOV. **Brasil anuncia na COP29 sua nova meta climática alinhada à Missão 1,5°C**, 08 mar. 2024. Disponível em: <<https://www.gov.br/mma/pt-br/assuntos/noticias/brasil-apresenta-sua-nova-meta-climatica-alinhada-a-missao-1-5oc>>. Acesso em: 07 fev. 2025.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Produção Nacional de Biodiesel Puro - B100 (m³)**, 13 jun. 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/dados-estatisticos>>. Acesso em: 01 ago. 2025.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **Biodiesel**, 13 jul. 2020. Disponível em: <<https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-de-biocombustiveis/biodiesel>>. Acesso em: 03 ago. 2025.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS (ANP). **RESOLUÇÃO ANP Nº 968, DE 30 DE ABRIL DE 2024**. 02 mai. 2024. Disponível em: <<https://atosoficiais.com.br/anp/resolucao-n-968-2024-estabelece-as-especificacoes-dos-oleos-diesel-destinados-a-veiculos-ou-equipamentos-dotados-de-motores-do-ciclo-diesel-e-as-obrigacoes-quanto-ao-controle-da-qualidade-a-serem-atendidas-pelos-agentes-eco>> . Acesso em: 03 mar. 2024.

ALEXANDRE, J. Y. et al. A Theoretical and Experimental Study for Enzymatic Biodiesel Production from Babassu Oil (*Orbignya* sp.) Using Eversa Lipase. **Catalysts**. 12(1), 2022. doi:10.3390/catal12111322.

ANOBOM, C. et al. From structure to catalysis: recent developments in the biotechnological applications of lipases. **Biomed Research International**, 2014. doi:10.1155/2014/684506.

AOCS. **Ca 2b-38: Moisture and Volatile Matter. In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

AOCS. **Cc 10a-25: Density. In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

AOCS. **Cd 1-25: Iodine Value (Wijs Method). In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

AOCS. **Cd 3-65: Saponification Value. In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

AOCS. **Cd 3d-63: Acid Value. In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

AOCS. **Ce 2-66: Fatty Acid Composition (GC Method). In Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**; AOCS: Champaign, IL, USA, 2017.

ARIAEENEJAD, A. et al., Enzyme immobilization on hydrogels: An overview on methods, interactions, and divers applications. **International Journal of Biological Macromolecules**. 333, 2025. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2025.149325.

ATADASHI, I., AROUA, M.; AZIZ, A. Biodiesel separation and purification: A review. **Renewable Energy**, 36(2), 2011. doi:10.1016/j.renene.2010.07.019.

ATHAR, M.; ZAIDI, S. A review of the feedstocks, catalysts, and intensification techniques for sustainable biodiesel production. **Journal of Environmental Chemical Engineering**. 8(6), 2020. doi: 10.1016/j.jece.2020.104523.

BAJAJ, A. et al. Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 62(1), p. 9-14, 2010. doi:10.1016/j.molcatb.2009.09.018.

BASSO, A.; SERBAN, S. Industrial applications of immobilized enzymes—A review. **Molecular Catalysis**, 479, 2019. doi:10.1016/j.mcat.2019.110607.

BEISSON, F. et al. Methods for lipase detection and assay: a critical review. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 102, p. 133–153, 2000.

BELLO, M.N. et al. Immobilized inclusion bodies of recombinant cold-adaptive lipase from Antarctic *Pseudomonas* sp. as catalysts. **Applied Microbiology and Biotechnology**, 109 (230), 2025. doi: 10.1007/s00253-025-13622-y.

BLOOMBERGNEF. **Brazil Has a \$1.3 Trillion Opportunity in Low-Carbon Energy Supply Investments, According to BloombergNEF**, 18 set. 2024. Disponível em: <<https://about.bnef.com/insights/finance/brazil-has-a-1-3->

trillion-opportunity-in-low-carbon-energy-supply-investments-according-to-bloombergnef/>. Acesso em: 10 dez. 2024.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 1976.

CAMPESTRE. **Óleo de coco babaçu – ficha técnica**. (s.d) Disponível em: <<https://www.campestre.com.br/oleos-vegetais/oleo-de-coco-de-babacu/oleo-de-coco-babacu-ficha-tecnica/>>. Acesso em: 02 fev. 2024.

CANDURI, F. **Termodinâmica em Bioquímica**. (s.d). Fonte: Disponível em: <https://graduacao.iqsc.usp.br/files/Termodinamica-em-Bioquimica-Profa-Fernanda.pdf>

CARDOSO, T. S. et al. A review of the use of heterogeneous catalysts for the production of biodiesel. **Brazilian Applied Science Review**, 4(1), p. 240-276, 2020. doi:10.34115/basrv4n1- 016.

CAVALCANTE, A. L. G. et al. Advancements in enzyme immobilization on magnetic nanomaterials: toward sustainable industrial applications. **RSC Advances**. 14, 2024. doi: 10.1039/D4RA02939A.

CAVALCANTI, E. D. et al. Use of Rhizomucor miehei fermented babassu cake (an agro-product residue) as efficient biocatalyst for macaúba acid oil deacidification in solvent-free medium: Transforming a non-edible crop product in a favourable biodiesel feedstock. **Process Biochemistry**, 148, p. 176-182. doi: 10.1016/j.procbio.2024.11.018.

CERRATINGA. **Babaçu**. (s.d). Disponível em: <<https://www.cerratinga.org.br/especies/babacu/>>. Acesso em: 02 fev. 2024.

CHANDRA, P.; ENESPA, R.; ARORA, P. Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microbial Cell Factories**, 19 (1), 2020. doi:10.1186/s12934-020-01428-8.

CHECA, M. et al. Recent Advances in Glycerol Catalytic Valorization: A Review. **Catalysts**, 10(11). doi:10.3390/catal10111279.

COOPERATIVA DOS PEQUENOS PRODUTORES AGROEXTRATIVISTAS DO LAGO DO JUNCO (COPPALJ). **O que fazemos**. (s.d). Disponível em: <<https://www.coppalj.com.br/what-we-do>>. Acesso em: 11 nov. 2024.

CRESPO, A. M.; SOUZA, M. N.; DA SILVA, M. B. Ciclo do carbono (C) e sistemas agroflorestais na sustentabilidade da produção agrícola: revisão de literatura. **Incaper em Revista**, p. 6-19, 2023. doi:10.54682/ier.v.13e14.p06.19

CRUZ-IZQUIERDO, A. et al. Magnetic Cross-Linked Enzyme Aggregates (mCLEAs) of Candida antarctica lipase: An efficient and stable biocatalyst for

biodiesel synthesis. **Plos one.** 9(12), 2014. doi: 10.1371/journal.pone.0115202.

CUI, J. et al. Hybrid Cross-Linked Lipase Aggregates with Magnetic Nanoparticles: A Robust and Recyclable Biocatalysis for the Epoxidation of Oleic Acid. **Agric Food Chem.** 64(38), p. 7179-7187, 2016. doi: 10.1021/acs.jafc.6b01939.

DA RÓS, P. et al. Enzymatic synthesis of biodiesel from palm oil assisted by microwave irradiation. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, 36, 443-451, 2013. doi:10.1007/s00449-012-0801-6.

DARYONO, E. et al. (2025). Study of the interesterification process of palm oil into methyl esters with biocatalysts of aromatic compounds. **Academic Journals and Conferences**, 19(3), 2025. doi:10.23939/chcht19.03.473.

DELATORRE, A. B. et al. Produção de biodiesel: considerações sobre as diferentes matérias-primas e rotas tecnológicas de processos. **Biológicas & Saúde**, 1(1), 2011. doi:10.25242/8868112011510

DEREWENDA, U. et al. Catalysis at the interface: the anatomy of a conformational change in a triglyceride lipase. **Biochemistry**, 31(5), 1532-1541, 1992. doi:10.1021/bi00120a034.

DHAWAN, M. S., & Yadav, G. D. Insight into a catalytic process for simultaneous production of biodiesel and glycerol carbonate from triglycerides. **Catalysis Today**, 309 (1), p. 161-171, 2018. doi:10.1016/j.cattod.2017.08.020.

DICOSIMO, R. et al. Industrial use of immobilized enzymes. **Chemical Society Reviews** (15), 2013. doi:10.1039/c3cs35506c.

DILL, L. P. **Síntese Enzimática de Ésteres Etílicos de Ácidos Graxos Assistida por Irradiação de Micro-ondas**, 2015. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/xmlui/bitstream/handle/1884/43043/R%20-%20D%20-%20LAIS%20PASTRE%20DILL.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 01 jul. 2025.

DU, W. et al. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 30, p. 125-129, 2004. doi:10.1016/j.molcatb.2004.04.004.

DU, W.; WANG, L.; LIU, D. Improved methanol tolerance during Novozym435-mediated methanolysis of SODD for biodiesel production. **Green Chemistry**. (2), 2007. doi:10.1039/B613704K.

EMBRAPA. **Soja em números (safra 2024/25)**, 2025. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/soja/cultivos/soja1/dados-economicos>>. Acesso em: 12 jul. 2025.

EMFAL. **Ficha de informação técnica: óleo de babaçu (coco)**, 2018. Disponível em: <<https://www.emfal.com.br/wp-content/uploads/2022/07/ficha-tecnica-089-oleo-de-babacu-coco-rev-05.pdf>>. Acesso em: 10 fev. 2024.

ENERGY INSTITUTE. **Statistical Review of World Energy**, 2025.

EUROPEAN COMMITTEE FOR STANDARDIZATION. **EN 14103: Fat and oil derivatives — Fatty Acid Methyl Esters (FAME) — Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents**. Brussels, 2003.

EXAME. **Brasil é o segundo maior produtor de biocombustíveis do mundo**, 2024. Disponível em: <<https://exame.com/esg/brasil-e-o-segundo-maior-produtor-de-biocombustiveis-do-mundo/>>. Acesso em: 13 mai 2025.

EXPASY. **Enzyme – Enzyme nomenclature database**, s.d. Disponível em: <<https://enzyme.expasy.org/>>. Acesso em: 20 mai 2024.

FECOMBUSTÍVEIS. **Brasil importou US\$ 8,3 bilhões em diesel em 2024, 65% vindo da Rússia**. 05 mai 2025. Disponível em: <<https://www.fecombustiveis.org.br/noticia/brasil-importou-us-83-bilhoes-em-diesel-em-2024-65-vindo-da-russia/260761>>. Acesso em: 12 jul 2025.

FENG, J. Review of covalent organic frameworks for enzyme immobilization: Strategies, applications, and prospects. **International Journal of Biological Macromolecules**. 248, 2023. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.125729.

FORBES. **Biodiesel: demanda crescerá 6,3% em 2026 com 10,5 Bilhões de Litros na Mistura B15**, 08 out. 2025. Disponível em: <<https://forbes.com.br/geral/2025/10/biodiesel-demanda-crescera-63-em-2026-com-105-bilhoes-de-litros-na-mistura-b15/>>. Acesso em: 20 out. 2025.

FREITAS, D. **Microbiologia: avanços através dos séculos e constante atualizações tecnológicas**. Ponta Grossa-PR: Atena Editora, 2021. ISBN 978-65-5983-633-8. doi: 10.22533/at.ed.338212311.

GIRALDELLI, M. G. **Síntese Enzimática de Biodiesel Acelerada por Irradiação de Micro-ondas**, 2014. 61 p. Monografia – Universidade de São Paulo, Lorena, 2014.

GLOBAL CARBON ATLAS. **Carbon Emissions**, 2023. Disponível em: <<https://globalcarbonatlas.org/emissions/carbon-emissions/>>. Acesso em: 02 mar 2025.

GÓMEZ-CALVO, A.; GALLARDO, E. M.; LADERO, M. Lipozyme® TL IM Biocatalyst for Castor Oil FAME and Triacetin Production by Interesterification: Activity, Stability, and Kinetics. **Catalysts**, 12 (12), 2022. doi:10.3390/catal12121673.

GUIMARÃES, J. et al. A review of lipase immobilization on hydrophobic supports incorporating systematic mapping principles. **Reaction Chemistry & Engineering**, 11, 2023. doi:10.1039/d3re00420a.

GUIMARÃES, J. et al. Mineralization of Lipase from *Thermomyces lanuginosus* immobilized on methacrylate beads bearing octadecyl groups to improve enzyme features. **Catalysts**, 12 (12), 2022. doi: 10.3390/catal12121552.

GUISAN, J. Immobilization of Enzymes and Cells. **Methods in Molecular Biology**, 2013. doi: 10.1007/978-1-62703-550-7.

HASAN, F. et al. Enzymes used in detergents: Lipases. **African Journal of Biotechnology**, 9(31), pp. 4836-4844, 2010. doi: 10.5897/AJBx09.026.

HUI XU, L. O. Life Cycle Greenhouse Gas Emissions of Biodiesel and Renewable Diesel Production in the United States. **Environmental Science & Technology**, 56 (12), pp. 7512-7521, 2022. doi:10.1021/acs.est.2c00289.

IDRIS, A.; BUKHARI, A. Immobilized *Candida antarctica* lipase B: Hydration, stripping off and application in ring opening polyester synthesis. **Biotechnology Advances**, 30 (3), p. 550-563, 2012. doi:10.1016/j.biotechadv.2011.10.002.

INSTITUTO BRASILEIRO DE PETRÓLEO E GÁS (IBP). **Maiores produtores mundiais de petróleo em 2024**, 2025. Disponível em: <<https://www.ibp.org.br/observatorio-do-setor/snapshots/maiores-produtores-mundiais-de-petroleo/>>. Acesso em: 30 abr. 2025.

INSTITUTO SOCIEDADE, POPULAÇÃO E NATUREZA (ISPEN). **Babaçu é fonte de história e vida para milhares de mulheres**. 9 mar. 2022. Disponível em: <<https://ispen.org.br/noticia/babacu-e-fonte-de-historia-e-vida-para-milhares-de-mulheres/>>. Acesso em: 15 jul 2025.

INTERGOVERNMENTAL PANEL ON CLIMATE CHANGE (IPCC). **Climate Change 2023 - Synthesis report**, 2023. Working Groups I, II and III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change, Geneva, Switzerland, 184 p. doi: 10.59327/IPCC/AR6-9789291691647

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). **Countries & Regions – Brazil**, 2024. Disponível em: <<https://www.iea.org/countries/brazil>>. Acesso em: 12 mar. 2025.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY (IEA). **World Energy Outlook**, 2023. Disponível em: <<https://iea.blob.core.windows.net/assets/66b8f989-971c-4a8d-82b0-4735834de594/WorldEnergyOutlook2023.pdf>>. Acesso em: 11 set. 2024.

INTERNATIONAL RENEWABLE ENERGY AGENCY (IRENA). **World Energy Transitions Outlook 2023: 1.5°C Pathway**, 2023. Disponível em:

<https://www.irena.org/-/media/Files/IRENA/Agency/Publication/2023/Jun/IRENA_World_energy_transitions_outlook_2023.pdf>

JEGANNATHAN et al. Production of biodiesel using immobilized lipase--a critical review. **Crit Rev Biotechnol.**, 28(4), p. 253-64, 2008. doi:10.1080/07388550802428392.

JESIONOWSKI, T; ZDARTA, J; KRAJEWSKA, B. Enzyme immobilization by adsorption: a review. **Adsorption**. 20, p. 801-821, 2014. doi: 10.1007/s10450-014-9623-y.

JÚNIOR, J. B. Performance of Eversa Transform 2.0 Lipase in Ester Production Using Babassu Oil (*Orbignya* sp.) and Tucuman Oil (*Astrocaryum vulgare*): A Comparative Study between Liquid and Immobilized Forms in Fe₃O₄ Nanoparticles. **Catalysts**, 13(3), 2023. doi:10.3390/catal13030571.

KALITA, B. J; NANDAN, S. Immobilization of crude cellulase from *Aspergillus foetidus* on agar xerogel and its application for carrot juice extraction. **Brazilian Journal of Microbiology**. 56(4), p. 2443-2458. doi: 10.1007/s42770-025-01770-2.

KAMATH, H.; REGUPATHI, I.; SAIDUTTA, M. Optimization of two step karanja biodiesel synthesis under microwave irradiation. **Fuel Processing Technology**, 92(1), p. 100-105, 2011. doi:10.1016/j.fuproc.2010.09.003.

KAPOOR, M.; GUPTA, M. Lipase promiscuity and its biochemical applications. **Process Biochemistry**, 47(4), p. 555-569, 2012. doi: 10.1016/j.procbio.2012.01.011.

KUMAR, R.; KUMAR, G.; CHANDRASKEBAR, N. Microwave assisted alkali-catalyzed transesterification of *Pongamia pinnata* seed oil for biodiesel production. **Bioresource Technology**, 102(11), p. 6617-6620, 2011. doi:10.1016/j.biortech.2011.03.024.

KUSUMANINGTYAS, R. D. et al. Synthesis of Biodiesel via Interesterification Reaction of *Calophyllum inophyllum* Seed Oil and Ethyl Acetate over Lipase Catalyst: Experimental and Surface Response Methodology Analysis. **Energies**, 15(20), 2022. doi:10.3390/en15207737.

KUSUMANINGTYAS, R. D.; PRISTIYANI, R.; DEWAJANI, H. A new route of biodiesel production through chemical interesterification of *Jatropha* oil using ethyl acetate. **International Journal of ChemTech Research**, 9(6), p. 627 – 634, 2016.

LAIPNIECE, L; KAMPARS, V. Scale-up of Biodiesel Synthesis in Chemical Interesterification Reaction of Rapeseed Oil with Methyl Formate and Methyl Acetate. **7th World Congress on Civil, Structural, and Environmental Engineering**, 2022. doi: 10.11159/iceptp22.206.

LI, B. et al. Biodiesel preparation from high acid value phoenix seed oil using Eversa transform 2.0 as a novel catalyst. **Biomass Conversion and Biorefinery**, 13(11), p. 9821 – 9830, 2023. doi:10.1007/s13399-021-01814-1

LIOW, M. et al. Enhancing efficiency of ultrasound-assisted biodiesel production catalyzed by Eversa® Transform 2.0 at low lipase concentration: Enzyme characterization and process optimization, 2024. **International Journal of Biological Macromolecules**, 271, 2024. doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.132538.

LISH, P. M. Immobilized Candida antarctica lipase B (CALB) for biodiesel production from rapeseed oil; evaluation of the effect of immobilization protocol. **International Journal of Biological Macromolecules**, 297, 2025. doi:10.1016/j.ijbiomac.2025.139814.

LÔBO, I.; FERREIRA, S.; CRUZ, R. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**. 32 (6), p. 1596-1608, 2009.

LOH, J.M. et al. Improved biodiesel production from sludge palm oil catalyzed by a low-cost liquid lipase under low-input process conditions. **Renewable Energy**. 177, p. 348-358, 2021. doi: 10.1016/j.renene.2021.05.138.

LOTTI, M. et al. Effects of methanol on lipases: molecular, kinetic and process issues in the production of biodiesel. **Biotechnology Journal**, p.22-30, 2015. doi:10.1002/biot.201400158.

LOTTI, M. et al. Enzymatic Production of Biodiesel: Strategies to Overcome Methanol Inactivation. **Biotechnol J.**, 13(5), 2018. doi:10.1002/biot.201700155.

MADDIKERI, G.; PANDIT, A.; GOGATE, P. Ultrasound assisted interesterification of waste cooking oil and methyl acetate for biodiesel and triacetin production. **Fuel Processing Technology**, 116, p. 241-249, 2013. doi: 10.1016/j.fuproc.2013.07.004.

MARCHETTI, J. M; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**.11(6), p.1300-1311, 2007. doi: 10.1016/j.rser.2005.08.006.

MARQUES, M. **Bioquímica**. 1. ed. revisada – Florianópolis: BIOLOGIA/EAD/UFSC, 2014. 182 p.

MARX, S. Glycerol-free biodiesel production through transesterification: a review. **Fuel Processing Technology**, 151, p. 139-147, 2016. doi:10.1016/j.fuproc.2016.05.033.

MARZZOCO, A; TORRES, B. **Bioquímica básica**. 4a edição. Rio de Janeiro: Guanabara, 2015.

MCKINLEY OCEAN CARBON GROUP. **Carbon e Climate**, 2025. Disponível em: <<https://galenmckinley.github.io/CarbonCycle/>>. Acesso em: 20 ago.2025.

MEHER, L. C.; SAGAR, V. D.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 10(3), 2006. doi:10.1016/j.rser.2004.09.002.

MEHRASBI, M. R. et al. Covalent immobilization of Candida antarctica lipase on core-shell magnetic nanoparticles for production of biodiesel from waste cooking oil. **Renewable Energy**. 101, p. 593-602, 2017. doi:10.1016/j.renene.2016.09.022.

MELO, R. L. Enhancing biocatalyst performance through immobilization of lipase (Eversa® Transform 2.0) on hybrid amine-epoxy core-shell magnetic nanoparticles. **International Journal of Biological Macromolecules**, 264, 2024. doi:10.1016/j.ijbiomac.2024.130730.

MILED, N. et al. Interfacial catalysis by lipases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 11(4-6), 2001. doi:10.1016/S1381-1177(00)00041-2.

MINISTÉRIO DO DESENVOLVIMENTO AGRÁRIO E AGRICULTURA FAMILIAR. **Selo Biocombustível Social. O que é?** 28 nov. 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/mda/pt-br/acesso-a-informacao/acoes-e-programas/programas-projetos-acoes-obras-e-atividades/selo-biocombustivel-social/o-que-e>>. Acesso em: 10 fev. 2025.

MIRANDA, L. P. **Compósitos reticulados de Eversa® Transform e nanopartículas magnéticas como biocatalisadores para a síntese de biodiesel em reator de fluxo em vórtices**. 112 p. Tese de Doutorado – Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2020.

MIRANDA, L. P. et al. Composites of Crosslinked Aggregates of Eversa® Transform and Magnetic Nanoparticles. Performance in the Ethanolysis of Soybean Oil. **Catalysts**. 10 (8), 817, 2020. doi:10.3390/catal10080817.

MIRANDA, L. P. et al. Ethanolysis of degummed soybean oil using magnetic CLEAs from Eversa® Transform. **Journal of Biotechnology**, 402, p. 79-86, 2025. doi:10.1016/j.jbiotec.2025.03.010.

MODI, M. K. et al. Lipase-mediated conversion of vegetable oils into biodiesel using ethyl acetate as acyl acceptor. **Bioresource Technology**, p. 1260-1264, 2007. doi:10.1016/j.biortech.2006.05.006.

MONTEIRO, R. R. et al. Liquid lipase preparations designed for industrial production of biodiesel. Is it really an optimal solution? **Renewable Energy**, 164, p. 1566-1587, 2021. doi:10.1016/j.renene.2020.10.071.

MORDOR INTELLIGENCE. **Tamanho do mercado de triacetina e análise de ações – Tendências e previsões de crescimento (2024 – 2029)**, 2023. Disponível em: <https://www.mordorintelligence.com/pt/industry-reports/triacetin-market>. Acesso em: 10 mar. 2024.

MOTA, C. J.; PESTANA, C. F. Co-produtos da Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, 3, 416-425, 2011. doi:10.5935/1984-6835.20110045.

MUFRODI, Z. et al. Comparison of the addition of triacetin to petroleum and waste plastic fuels. **Journal of Chemical Technology and Metallurgy**, 587-594, 2025. doi:10.59957/jctm.v60.i4.2025.6.

NAROWSKA, B.; KULAZYŃSKI, M.; LUKASZEWICZ, M. Microwave-assisted transesterification of sunflower oil. **Przemysl Chemiczny**, 1(8), p. 214-217, 2015. doi: 10.15199/62.2015.8.36.

NARWAL, S.; GUPTA, R. Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. **Biotechnology Letters**, 35, p. 479-490, 2012. doi:10.1007/s10529-012-1116-z.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NETO, A. A. S. **Transesterificação biocatalítica de triglicerídeos do óleo de moringa e valorização do subproduto glicerol**. Tese (Doutorado), Departamento de Engenharia de Processos, Universidade Tiradentes. Aracaju, SE, abr. 2024.

NIELSEN, P. M. et al. Production of Biodiesel Using Liquid Lipase Formulations. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, 93(7), p. 905–910, 2016. doi:10.1007/s11746-016-2843-4.

NIGAM, S. Lipase Immobilization Techniques for Biodiesel Production: An Overview. **International Journal of Renewable Energy & Biofuels**, 2014. doi:10.5171/2014.664708.

OLIVEIRA, A. et al. Review on Lipase-Catalyzed Flavor Synthesis: Global Trends and Advances. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 73(28), p. 17315-17330, 2025. doi:10.1021/acs.jafc.5c00386.

ORTIZ, C. et al. Novozym 435: the “perfect” lipase immobilized biocatalyst? **Catalysis Science & Technology**, (10), 2019. doi:10.1039/c9cy00415g.

PANADARE, D. C.; RATHOD, V. K. Microwave assisted enzymatic synthesis of biodiesel with waste cooking oil and dimethyl carbonate. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 518-524. doi:10.1016/j.molcatb.2017.05.003.

PETROBRAS. **Óleo diesel: o combustível que movimenta o país**. s.d. Disponível em: <<https://petrobras.com.br/quem-somos/oleo-diesel>>. Acesso em: 20 ago 2025.

PONTE, F.A. Avaliação físico-química dos óleos de babaçu (*Orbignya speciosa*) ecoco (*Cocos nucifera*) com elevado índice de acidez e dos ácidos graxos (C6 a C16). **Scientia Plena**, 2017. doi:10.14808/sci.plena.2017.085301.

PRABHAKAR, T. Covalent immobilization: A review from an enzyme perspective. **Chemical Engineering Journal**. 503, 2025. doi: 10.1016/j.cej.2024.158054.

PRIEBE, J. M. et al. Ultrasound assisted interesterification of babassu oil with acetates using acid catalysts for biodiesel and triacetin production. **Chemical Engineering and Processing - Process Intensification**, 205, 2024. doi: 10.1016/j.cep.2024.110028.

QADEER, M. U., et al. Interesterification of waste cooking oil via microwave irradiation for glycerol-free biodiesel production. **Biomass and Bioenergy**, 197, 2025. doi:10.1016/j.biombioe.2025.107739.

QU, P. et al. Enhancing methanol tolerance of *Thermomyces lanuginosus* lipase by rational design and biodiesel production through one-step feeding of metanol. **Journal of Cleaner Production**, 2024. doi: 10.1016/j.jclepro.2024.141949.

RAMOS, L. P. et al. Tecnologias de Produção de Biodiesel. **Revista Virtual de Química**, 3, 385-405, 2011. doi:10.5935/1984-6835.20110043.

RAMOS, M. D. et al. 1,3-Regiospecific ethanolysis of soybean oil catalyzed by crosslinked porcine pancreas lipase aggregates. **Biotechnology Progress**, p. 910-920, 2018. doi:10.1002/btpr.2636

RANGANATHAN, S.; NARASIMHAN, S.; MUTHUKUMAR, K. An overview of enzymatic production of biodiesel. **Bioresource Technology**, 99(10), 2008. doi:10.1016/j.biortech.2007.04.060.

REHMAN, S. et al. Cross-linked enzyme aggregates (CLEAs) of *Penicillium notatum* lipase enzyme with improved activity, stability and reusability characteristics. **Int J Biol Macromol**. 91, p. 1161-1169, 2016. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.06.081.

REJASSE, B et al. Influence of microwave irradiation on enzymatic properties: applications in enzyme chemistry. **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, 22(5), p. 519-527. doi: 10.1080/14756360701424959

RODRIGUES, MARIA ISABEL. **Planejamento de experimentos e otimização de processos**/ Maria Isabel Rodrigues, Antônio de Francisco

lemma – 3^a. Ed. – Campinas, SP: Casa do Espírito Amigo Fraternidade Fé e Amor, 2014.

SAMPAIO, C. et al. Lipase immobilization via cross-linked enzyme aggregates: Problems and prospects - A review. **Int J Biol Macromol.** 215, p. 434-449, 2022. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2022.06.139.

SANTOS, H; STUTZ, B.; YOUNG, A. Process simulation and economic evaluation of the industrial production of triacetin from glycerol: Comparing acetic acid and acetic anhydride as possible reagents. **Renewable Energy**, 237, 2024. doi: 10.1016/j.renene.2024.121943.

SANTOS, J. R.. **Biodiesel de babaçu: avaliação térmica, oxidativa e misturas binárias**. Tese (Doutorado), Departamento de Química, UFPA. João Pessoa, PA, dez. 2008.

SENDZIKIENE, E.; MAKAREVICIENE, V. Synthesis of Biodiesel by Interesterification of Triglycerides with Methyl Formate. **Applied Sciences**, 12(19), 2022. doi:10.3390/app12199912.

SHAHID, E. M.; JAMAL, Y. Production of biodiesel: A technical review. **Renewable and Sustainable Energy**, 15(9), p. 4732 – 4745, 2011. doi:10.1016/j.rser.2011.07.079.

SOUSA et al. Solvent-free esterifications mediated by immobilized lipases: a review from thermodynamic and kinetic perspectives. **Catalysis Science & Technology**. 11, p. 5696-5711, 2021. doi: 10.1039/D1CY00696G.

SUN, S.; GUO, J.; CHEN, X. Biodiesel preparation from Semen Abutili (Abutilon theophrasti Medic.) seed oil using low-cost liquid lipase Eversa® transform 2.0 as a catalyst. **Industrial Crops and Products**. 2021. doi: 10.1016/j.indcrop.2021.113643.

TAMILSELVAN, P., NALLUSAMY, N., & RAJKUMAR, S. A comprehensive review on performance, combustion and emission characteristics of biodiesel fuelled diesel engines. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 79, p. 1134-1159, 2017. doi:10.1016/j.rser.2017.05.176.

TAN, T., et al. Biodiesel production with immobilized lipase: A review. **Biotechnology Advances**, 28(5), p. 628-634, 2010. doi:10.1016/j.biotechadv.2010.05.012

TIOSSO, P. C. **Transesterificação de triglicerídeos de fonte vegetal a animal catalisada por preparações comerciais de lipase imobilizada na presença de etanol visando a produção de biodiesel**. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Paraná, 2010.

TONGBORIBOON, K.; CHEIRSILP, B.; H-KITTIKUN, A. Mixed lipases for efficient enzymatic synthesis of biodiesel from used palm oil and ethanol in a

solvent-free system. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, 67(1-2), p. 52-59, 2010. doi:10.1016/j.molcatb.2010.07.005.

UNITED NATIONS CLIMATE CHANGE. **What is the Kyoto Protocol?**, s.d. Disponível em: <https://unfccc.int/kyoto_protocol?utm_source=chatgpt.com>. Acesso em: 20 fev. 2025.

UNITED NATIONS FRAMEWORK CONVENTION ON CLIMATE CHANGE (UNFCCC). **United Nations Climate Change Annual Report 2022**, 2023. Disponível em: <https://unfccc.int/sites/default/files/resource/UNClimateChange_AnnualReport_2022.pdf>. Acesso em: 12 set. 2024.

UNITED NATIONS. **The Paris Agreement**, s.d. Disponível em: <<https://www.un.org/en/climatechange/paris-agreement>>. Acesso em: 20 fev. 2025.

UOL. **Brasil bate recorde na importação de diesel no 1º semestre, aponta StoneX**. 08 jul. 2025. Disponível em: <<https://economia.uol.com.br/noticias/reuters/2025/07/08/brasil-bate-recorde-na-importacao-de-diesel-no-1-semester-aponta-stonex.htm>>. Acesso em: 03 out. 2025.

USAI, E. et al. Simultaneous enzymatic synthesis of FAME and triacetyl glycerol from triglycerides and methyl acetate. **Bioresource Technology**, 101(20), p. 7707-7712, 2010. doi:10.1016/j.biortech.2010.05.044.

VARGAS, M., Lipases as Biocatalyst for Biodiesel Production. **Methods Mol Biol.**, 2018. doi:10.1007/978-1-4939-8672-9_21.

VERGER, R. Interfacial activation' of lipases: facts and artifacts. **Trends in Biotechnology**, 15(1), 32-38, 1997. doi:10.1016/S0167-7799(96)10064-0.

VERMA, D.; VERMA, C.; FUERTES, P. **Green Chemical Synthesis with Microwaves and Ultrasound.**, 2024. doi: 10.1002/9783527844494.

VESCOVI, V. **Extração, purificação e imobilização de lipases vegetais destinadas à síntese de biodiesel e ésteres**. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2012.

VIEIRA, A. C. **Produção enzimática de compostos de valor agregado a partir do destilado da desodorização do óleo de soja**. Tese (Doutorado). Universidade Federal de São Carlos. São Carlos, 2021.

WANG et al. Current Strategies for Real-Time Enzyme Activation. **Biomolecules**, 2022. doi: 10.3390/biom12050599.

WONG, W.-Y. et al. A comprehensive review of the production methods and effect of parameters for glycerol-free biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 2023. doi: 10.1016/j.rser.2023.113397.

WORD ENERGY ASSOCIATION. **Brazil: Powering the transition through bioenergy leadership**. 2025. Disponível em: <<https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/na-cop30-alexandre-silveira-lanca-livro-e-hotsite-sobre-transicao-energetica-brasileira/BrazilWorldLeaderinEnergyTransitionCOP30MinistryofMinesandEnergy1.pdf>>. Acesso em: 10 out. 2025.

WORLD BIOENERGY ASSOCIATION. **Global Bioenergy Statistics Report**. 2024. Disponível em: <<https://www.worldbioenergy.org/global-bioenergy-statistics/>>. Acesso em: 10 jul 2025.

XU, H. et al. Life Cycle Greenhouse Gas Emissions of Biodiesel and Renewable Diesel Production in the United State. **Environmental Science & Technology**, 56 (12), 2022. doi: 10.1021/acs.est.2c00289.

XUEBING, Z et al.. Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, 44, p. 182-197, 2015. doi:10.1016/j.rser.2014.12.021.

YANG, K. S.; SOHN, J.-H.; KIM, H. Catalytic properties of a lipase from *Photobacterium lipolyticum* for biodiesel production containing a high methanol concentration. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, 107(6), p. 599 – 604, 2009. doi:10.1016/j.jbiosc.2009.01.009.

YASVANTHRAJAN, N. et al. Ultrasound assisted lipase catalysed transesterification using waste cottonseed oil. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, 177, 2025. doi:10.1016/j.jtice.2025.106076.

YILMAZ, N. Comparative analysis of biodiesel-ethanol-diesel and biodiesel-methanol-diesel blends in a diesel engine. **Energy**, 40, p. 2010-2013, 2012. doi:10.1016/j.energy.2012.01.079

YOUSSEF, O. et al. Glycerol-Free Biodiesel via Catalytic Interesterification: A Pathway to a NetZero Biodiesel Industry. **Sustainability**, 16(12), 2024. doi:10.3390/su16124994.

YUSURF, N. N.; KAMARUDIN, S. K.; YAAKUB, Z. Overview on the current trends in biodiesel production. **Energy Conversion and Management**, 52(7), p. 2741-2751, 2011. doi:10.1016/j.enconman.2010.12.004.

YUYING, Y. et al. Covalent Organic Framework Aerogels with Tailored Microenvironments for Optimizing Enzyme Immobilization and Catalytic Performance. **Chinese Journal of Chemistry**. 43(23), p. 3205-3212, 2025. doi: 10.1002/cjoc.70220.

ZAINAL, M. Z., et al. Enzymatic Interesterification of Crude Palm Oil with Methyl acetate: Effect of Pre-treatment, Enzyme Dosage and Its Stability.

Bulletin of Chemical Reaction Engineering and Catalysis, 18, p. 294 – 302, 2023. doi:10.9767/bcrec.17763.

ZHANG, R. et al. Biodiesel synthesis from Semen Abutili (Abutilon theophrasti Medic.) seed oil utilizing a novel immobilized complex lipase: Simultaneously ethanolysis and esterification. **Biomass and Bioenergy**. 2025. doi:10.1016/j.biombioe.2025.107731.

ZHAO, X. et al. Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 44, p. 182-197, 2015. doi: 10.1016/j.rser.2014.12.021.