

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO CIÊNCIA E TECNOLOGIA DO RIO  
GRANDE DO NORTE-CAMPUS APODI  
LICENCIATURA EM QUÍMICA

RITA DE CÁSSIA PINTO MEDEIROS

**SÍNTESE DE ESTERES DERIVADOS DO GLICEROL PRODUZIDOS  
ATRAVÉS DE CATÁLISE ENZIMÁTICA**

APODI-RN

2021

RITA DE CÁSSIA PINTO MEDEIROS

**SÍNTESE DE ESTERES DERIVADOS DO GLICEROL PRODUZIDOS  
ATRAVÉS DE CATÁLISE ENZIMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Curso Superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Orientador (a): Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva

APODI-RN

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

M488s Medeiros, Rita de Cássia Pinto.

Síntese de ésteres derivados do glicerol produzidos através de catálise enzimática / Rita de Cássia Pinto Medeiros – Apodi, 2021.

36 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva.

Trabalho de conclusão de curso (Superior). Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Campus Apodi - Curso Superior de Licenciatura Plena em Química, Apodi, 2021.

1. Esterificação. 2. Ésteres. 3. Glicerina. 4. Energias renováveis. 5. Química orgânica. I. Silva, Francisco Felipe Maia da (orient). II. Título.

IFRN

547 CDU

RITA DE CÁSSIA PINTO MEDEIROS

**SÍNTESE DE ESTERES DERIVADOS DO GLICEROL PRODUZIDOS  
ATRAVÉS DE CATÁLISE ENZIMÁTICA**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso superior de Licenciatura em Química do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, em cumprimento às exigências legais como requisito parcial à obtenção do título de Graduado em Química.

Orientador: Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado e aprovado em 11/02/2021, pela seguinte Banca Examinadora:

BANCA EXAMINADORA

*Francisco Felipe Maia da Silva*

---

Prof. Dr. Francisco Felipe Maia da Silva – Presidente

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

*Alcivan Almeida Evangelista Neto*

---

Prof. Dr. Alcivan Almeida Evangelista Neto – Examinadora

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

*Tasso Lessa do Nascimento*

---

Prof. Me. Tasso Lessa do Nascimento – Examinadora

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte.

Dedico este trabalho primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida, autor do meu destino, meu guia, socorro presente na hora da angústia, pois sem ele eu não teria forças para essa longa jornada e especialmente ao meu pai Lourival de Medeiros, minha mãe Vanuzia Pinto, meu marido João Batista e meu filho Twilo Moraes.

## **AGRADECIMENTO**

A Deus que me deu força e coragem para vencer todos os obstáculos e dificuldades enfrentadas durante o curso, que me socorreu em todos os momentos dando-me forças para continuar. Ao professor e orientador Francisco Felipe Maia Da Silva, por ter acreditado na possibilidade da realização deste trabalho, pela disponibilidade dispensada e sugestões que foram preciosas para a concretização desta monografia. A minha mãe, meu filho, esposo e irmãos e irmãs, com eles compartilho a realização deste trabalho que é um dos momentos mais importante para mim. Meus colegas de classe que foram verdadeiros e companheiros, e em especial as minhas companheiras Lohane Vanessa e Joyce Soares, elas têm grande parcela de contribuição na minha graduação e sempre serei muito grata por isso, pois foram colegas, irmãs e amigas. Agradeço especialmente aos professores, que me incentivaram a continuar lutando com garra e coragem e ao desempenho dos mesmos.

## RESUMO

O glicerol é de proveito especial porque é fabricado em abundância, como um coproduto durante a fabricação de biodiesel por meio de transesterificação ou esterificação. Uma das formas de realizar o aproveitamento do glicerol no sentido de obter derivados por esterificação com maior valor agregado consiste no uso das enzimas lipases que apresentam capacidade de catalisar reações tanto em meio aquoso como em meio orgânico, onde o teor de água é restrito. Logo, a esterificação é um procedimento químico para aquisição de ésteres obtendo o monoaceto, diaceto e triacetato de glicerol elaborados pela esterificação do glicerol com ácidos carboxílicos com catálise enzimática. Por isso, no presente trabalho foram realizadas reações com as enzimas *Thermomyces lanuginosus* (TLL), *Rhizomucor miehei* (RML), *Candida antarctica do tipo B* (CALB) *Novozyme* e a *Amano lipase livre* com os solventes Hexano, Iso-octano, Acetona e Tetrahydrofurano (THF). Através destas dos resultados obtidos a *Novozyme* imobilizada reagiu com a acetona tendo uma conversão de 78,42%, mostrando a eficiência de catálise da enzima lipase CALB *Novozyme* sintetizando ésteres. As reações dos solventes em função do tempo apresentou grandes percentuais. Com 24 horas reagiu com a acetona apresentando conversão de 78,42% e com 48 horas com conversão de 37,93%, comparado os demais solventes que não reagiram. pode-se concluir que a enzima imobilizada *Novozyme* e a acetona foram viáveis no processo de esterificação na obtenção de ésteres. Sendo assim, as reações de esterificação são essenciais para a síntese de ésteres em consequência da grande necessidade desses compostos. Os quais possuem potencial de uso industrial e tecnológico através do uso de catalisadores enzimáticos.

Palavras-chave: glicerina, ésteres, enzima, esterificação

## ABSTRACT

Glycerol is of special benefit because it is manufactured in abundance, as a co-product during the manufacture of biodiesel through transesterification or esterification. One of the ways to make use of glycerol in order to obtain derivatives by esterification with greater added value is the use of enzymes lipases that have the ability to catalyze reactions in both aqueous and organic media, where the water content is restricted. Therefore, esterification is a chemical procedure for the acquisition of esters, obtaining the glycerol monoacet, diacet and triacetate elaborated by the esterification of glycerol with carboxylic acids with enzymatic catalysis. Therefore, in the present work, reactions were carried out with the enzymes *Thermomyces lanuginosus* (TLL), *Rhizomucor miehei* (RML), *Candida antarctica* type B (CALB) Novozyme and free Amano lipase with the solvents Hexane, Isooctane, Acetone and Tetrahydrofuran (THF). Through these results, Novozyme immobilized reacted with acetone with a conversion of 78.42%, showing the efficiency of catalysis of the enzyme lipase CALB Novozyme synthesizing esters. The reactions of the solvents as a function of time showed high percentages. After 24 hours, it reacted with acetone, showing a conversion of 78.42% and with 48 hours, with a conversion of 37.93%, compared to the other solvents that did not react. It can be concluded that the Novozyme immobilized enzyme and acetone were viable in the esterification process to obtain esters. Therefore, esterification reactions are essential for the synthesis of esters as a result of the great need for these compounds. Which have potential for industrial and technological use through the use of enzymatic catalysts.

Keywords: glycerin, esters, enzyme, esterification

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Reação de Transesterificação de um Óleo ou Gordura para obtenção de Biodiesel.....	7
Figura 2 Estrutura do glicerol.....	8
Figura 3 - Representação esquemática do glicerol.....	10
Figura 4 - Usos tradicionais do glicerol .....	11
Figura 5 - Síntese catalítica seletiva de monoglicerídeos.....	11
Figura 6 - alguns dos possíveis ésteres do Glicerol.....	12
Figura 7 - Modelo da chave de fechadura .....	14
Figura 8 - Modelo de encaixe induzido.....	14
Figura 9 - secagem dos solventes .....	17
Figura 10 - reações em agitação e aquecimento.....	18
Figura 11 - enzimas antes das reações.....	18
Figura 12 - reações com biocatalisadores.....	18
Figura 13 - solventes usados nas reações .....	19
Figura 14 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).....	20
Figura 15 - Reação de esterificação do Glicerol .....	21
Figura 16 - Espectro de massa do Monoacetilglicerol .....	22
Figura 17 - Pico da reação de esterificação catalisada com a enzima <i>Novozyme</i> .....	22
Figura 18 - Espectro de massa do Monoacetilglicerol .....	24
Figura 19 - Pico da reação de esterificação catalisada com a enzima <i>Novozyme</i> .....	24
Figura 20 - Espectro de massa do diacilglicerol.....	24
Figura 21 - Espectro de massa do triacilglicerol .....	25

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	4
<b>2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA</b> .....	6
2.1 BIODIESEL .....	6
2.2 GLICEROL .....	8
2.3 ÉSTERES DE GLICEROL .....	11
2.4 CATÁLISE ENZIMÁTICA.....	12
<b>2.4.1 Lipase</b> .....	15
<b>2.4.2 Lipase de <i>Rhizomucor miehei</i></b> .....	16
<b>3 METODOLOGIA</b> .....	17
3.1 PREPARAÇÃO DOS SOLVENTES.....	17
3.2 REAÇÃO ENZIMÁTICA.....	17
<b>3.2.1 Escolha das enzimas</b> .....	17
<b>3.2.2 Escolha dos solventes</b> .....	19
3.3 CARACTERIZAÇÕES DOS PRODUTOS.....	19
<b>3.3.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)</b> .....	19
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	21
4.1 ANÁLISE DO CATALISADOR .....	21
4.2 ANÁLISE DOS SOLVENTES COM A ENZIMA <i>NOVOZYME</i> EM FUNÇÃO DO TEMPO .....	23
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	26
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	27

## 1 INTRODUÇÃO

A utilização de fontes alternativas de energia colabora consideravelmente para evitar os graves problemas do aquecimento global motivado pelas emissões dos gases efetuados pelo uso excessivo de derivados do petróleo. Estas fontes renováveis de energia vêm diminuindo a poluição, motivando o mercado mundial dos biocombustíveis (PEITER *et al.*, 2016).

Neste sentido, o bicomcombustível diminui a emissão dos gases responsáveis pelo efeito estufa, originados especialmente do consumo de combustíveis fósseis (KNOTHE *et al.*, 2006). Ele é uma fonte renovável de energia que é usada como método de combustão da biomassa ou de seus provenientes, como o etanol (álcool para combustível), biodiesel, biogás, óleo vegetal e outros.

A produção do biodiesel é originada de um procedimento químico intitulado transesterificação, que ocorre entre qualquer triglicerídeo (óleos vegetais e gorduras de animais) e álcool de cadeia pequena (metanol ou etanol) (GERIS *et al.*, 2007). O processo de transesterificação é o método usado para gerar a glicerina e o biodiesel (LÔBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

Sendo assim as investigações estão sendo executada no mundo inteiro a procura de meios de utilização para o excedente de glicerina no mercado, formadas como coproduto do processo de produção de biodiesel (RIBEIRO, 2009). A oferta é de proveito especial porque é fabricado em abundância, como um coproduto durante a fabricação de biodiesel por meio de transesterificação (PEITER *et al.*, 2016).

Segundo Beatriz *et al.*, 2011 a purificação da glicerina bruta pode ser realizada por destilação sob pressão limitada, originando num produto transparente Além do seu uso direto nas indústrias de alimentos e cosméticos, o uso de derivados do mesmo possui diversas outras aplicações, incluindo farmacêuticos, polímeros, plásticos, aditivos, tecidos e etc. A modificação catalítica desse glicerol em produtos de grande valor como acetatos, acetais, carbonatos, éteres e ésteres, tem encantado a atenção de vários pesquisadores (OKOYE; HAMEED, 2016)

Ésteres do glicerol como o monoacetato de glicerol (monoacetato, MAG), diacetato de glicerol (diacetato, DAG) e triacetato de glicerol (triacetina, TAG) são uma mistura inestimável como surfactantes (MAG) e complementos de combustíveis líquidos (DAT e TAG), aperfeiçoando a octanagem, particularidades anticongelantes e

viscosidade. Estes ésteres podem ser alcançados na reação de acetilação do glicerol com ácido acético (HOAc) (SAN KONG *et al.*, 2016). Para ter melhor aproveitamento da glicerina mais limpa, utilizam-se as enzimas na esterificação do produto que dará sua origem.

As enzimas são moléculas orgânicas de natureza proteica e operam nas reações químicas como catalisadores, ou seja, acelera os processos sem modifica-las. Normalmente são os catalisadores mais capazes, por sua alta particularidade (FREIRE; SANTOS, 2019).

No entanto Costa Neto (2002) explica que as lipases fazem parte de um grupo de enzimas hidrolíticas que catalisam a quebra de ligações de ésteres carboxílicos de acil gliceróis para liberar ácidos graxos e glicerol. Além da hidrólise, podem também exercer sua atividade catalítica em reações de interesterificação, esterificação, transesterificação, acidólise e glicerólise.

Babicz (2009) relata que estes catalisadores são enzimas de interface que apresentam capacidade de catalisar reações tanto em meio aquoso como em meio orgânico, onde o teor de água é restrito, as quais são capazes de catalisar reações de hidrólise e síntese de grupos ésteres de diversos compostos. Além disso, são amplamente encontradas na natureza, podendo ser obtidas a partir de microrganismos naturais ou geneticamente alteradas e a partir de fontes animais e vegetais.

No presente trabalho, foi sintetizado os ésteres derivados do glicerol com potencial de uso industrial e tecnológico através do uso de catalisadores enzimáticos, onde foi utilizado a enzima lipase imobilizada em alginato de cálcio, viabilizando o desenvolvimento de processos constantes, em escala comercial, ao oposto de operações em pequena escala, que normalmente utilizam enzimas livres.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 BIODIESEL

O colapso do petróleo associada ao crescimento da procura por combustíveis e à grande preocupação com o meio ambiente, impulsionou a busca por fontes alternativas de energia no Brasil e no mundo (SUAREZ *et al.*, 2009).

De acordo com Apolinário *et al.* (2012) o uso do biodiesel como combustível tem mostrado uma competência promissora no mundo inteiro, tanto pela sua grande colaboração ao meio ambiente, com a diminuição dos níveis de poluição ambiental, como por ser fonte estratégica de energia renovável em substituição ao óleo diesel e outros derivados do petróleo.

Sendo assim, o Biodiesel é um combustível biodegradável adquirido através da união de óleos vegetais removidos de culturas oleaginosas ou gordura de animais (APOLINÁRIO *et al.*, 2012).

O Brasil tem maior notabilidade na análise global do biodiesel, devido sua grande variedade de espécies de vegetais que podem ser utilizados na produção deste biocombustível, entre elas soja, dendê, girassol, babaçu, amendoim, mamona e pinhão-manso, de onde é retirado o óleo vegetal, e a sua vasta criação de animais bovinos que proveem a gordura animal (PEITER *et al.*, 2016).

As fundamentais matérias-primas para a fabricação de biodiesel são óleos vegetais e gorduras de animais, sendo o óleo de soja o mais usado no Brasil. Apesar de seu pequeno rendimento em lipídeos, a soja faz com que seja a matéria-prima prioritária da indústria do biodiesel (SUAREZ *et al.*, 2009).

A fabricação do biodiesel do Brasil no final de 2020 terá um total de 6,4 bilhões de litros, aumento de 8,5% comparado ao ano 2019, com um nível recorde para um ano, de acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE) (ARAÚJO, 2020).

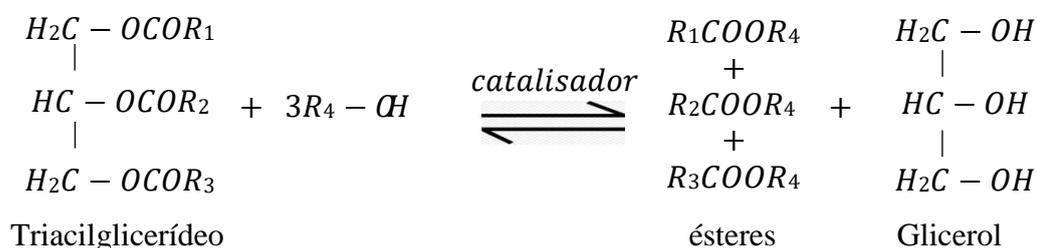
Segundo Christoff (2006) o biodiesel tem as seguintes propriedades: é eventualmente independente de enxofre e aromáticos; contém viscosidade e ponto de fulgor maior do que o óleo diesel convencional; expõe excelente lubrificidade; é miscível no óleo diesel; dispõe de benefício de mercado específico, com foco relacionado à atividades agrícolas e emite gases do efeito estufa.

Esse biocombustível foi determinado pela “*National Biodiesel Board*” como originário do *monoalquil* éster de ácidos graxos de cadeia grande, originário de fontes renováveis como óleos vegetais ou gordura animal (COSTA *et al.*, 2000).

O fundamental meio para adquirir o biodiesel é a partir da transesterificação de óleos vegetais com álcoois (metanol e etanol), utilizando catálise básica (PEITER *et al.*, 2016).

De acordo com a Figura 1 pode-se ver a equação química da reação de transesterificação:

Figura 1 - Reação de Transesterificação de um Óleo ou Gordura para obtenção de Biodiesel.



Fonte: Adaptado de GERIS *et al.*, 2007.

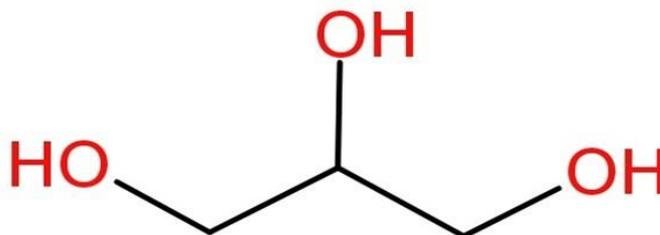
Neste meio de reação como vimos na Figura 1, os óleos vegetais, um *triacilglicerídeo* reage com um álcool no meio de uma base ou ácido forte, gerando uma mistura de ésteres de ácidos produzindo um subproduto, o glicerol (GERIS *et al.*, 2007). Com o aumento da fabricação do biocombustível, faz com que tenha um excedente de glicerina no mercado mundial (MENDES; VALDÉS, 2012).

A divisão da glicerina e do biodiesel metílico acontece por decantação, possibilitando o procedimento de purificação. Na transesterificação, como o metanol é acrescentado em excesso, forma-se duas fases: uma rica em metanol e uma rica em biodiesel. A glicerina divide-se entre essas duas fases, prevalecendo, porém, na fase metanólica. No entanto, quando se utiliza o etanol fica complicada a divisão das fases dos resultados. Além disso, as impurezas apresentadas no glicerol resultam do tipo da oleaginosa e do tipo de catálise utilizada na fabricação do biodiesel. Como resultado a glicerina bruta tem poucas utilidades diretas (FOGAÇA, 2021).

## 2.2 GLICEROL

O glicerol é um tri-álcool com 3 carbonos, possuindo como nome cometido (IUPAC) *1,2,3-propanotriol* (figura 2). O nome glicerol procede da palavra grega *glykys*, doce (BEATRIZ *et al.*, 2011).

Figura 2 Estrutura do glicerol



Fonte: Pesquisa, 2019.

Assim, o glicerol é uma das mais versáteis e valiosas substâncias químicas conhecidas para o homem. Comercialmente, o glicerol recebe, frequentemente, o nome de glicerina. Foi preparada pela primeira vez por Carl W. Scheele (químico sueco), em 1779, mediante o aquecimento do óleo de oliva com litargírio (PbO, usado no esmalte para cerâmicas) (BEATRIZ *et al.*, 2011).

O glicerol é o fundamental coproduto originado na fabricação de biodiesel, sendo que mais ou menos 10% do volume total de biodiesel produzido equivalem ao glicerol (DASARI *et al.*, 2005). A glicerina decorrente da produção do biodiesel (glicerina bruta vegetal) exibe cerca de 20% de impurezas (BEATRIZ *et al.*, 2011)

Com o objetivo de evitar posteriores problemas originados da acumulação de glicerol e para tornar a fabricação de biodiesel mais adversária, torna-se essencial à procura de meios para a utilização do glicerol bruto originado nesta produção (APOLINÁRIO *et al.*, 2012).

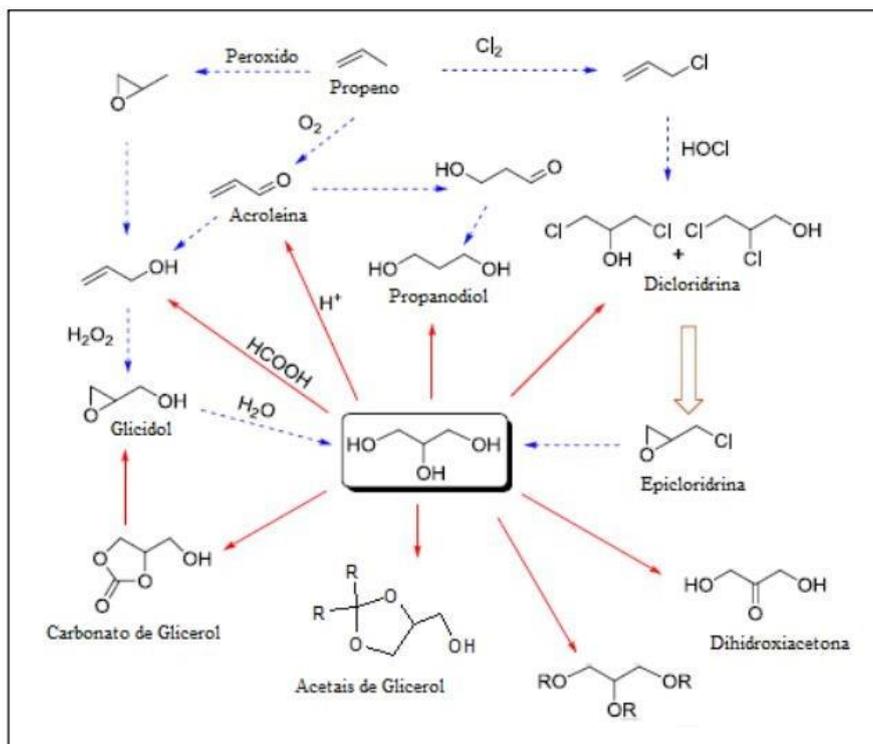
Tabela 1 - Propriedades físicas do glicerol

PROPRIEDADE	VALOR
Ponto De Fusão (°C)	18,17
Ponto De Ebulição (°C)	
	0,53 Kpa
	1,33 Kpa
	13,33 Kpa
	101,3 Kpa
Gravidade Específica, 25/25 °C	1,2620
Pressão De Vapor (Pa)	
	50 °C 0,33
	100 °C 526
	150 °C 573
	200 °C 6100
Tensão Superficial (20 °C, N/M)	63,4
Viscosidade (20 °C, Mpa/S)	1499
Calor De Vaporização (J/Mol)	
	55 °C
	95 °C
Calor Da Solução Para Diluição Infinita (Kj/Mol)	5,778
Calor De Formação (Kj/Mol)	667,8
Condutividade Térmica [W/(M.K)]	0,28
Ponto De Fulgor (°C)	
Frasco Aberto Cleveland	177
Frasco Fechado Pensky-Martens	199
Ponto De Incêndio (°C)	204
Permissividade Dielétrica (25 °C)	42,5

Fonte: Ribeiro, 2009.

Pesquisadores em toda parte do mundo, estão em busca de métodos para a utilização do excesso de glicerina, pois suas transformações em produtos têm maior valor agregado. O esquema mostrado na (Figura 3) temos a representação esquemática do glicerol convertido em produtos químicos de valor, representado por setas (química verde) e os produtos químicos produzidos a partir de propeno, e por fim, caracterizados por setas tracejadas (fonte petroquímica) (CARVALHO, 2016).

Figura 3 - Representação esquemática do glicerol

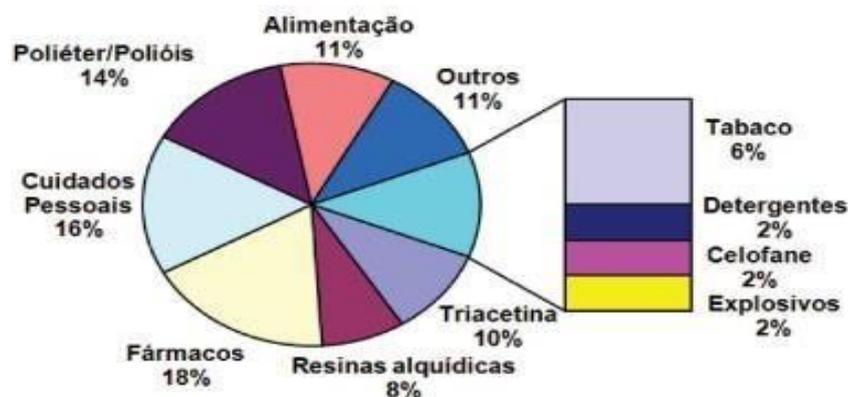


Fonte: PAGLIARO *et al.*, 2007.

O glicerol no seu estado puro aparece como um líquido viscoso, incolor, sem cheiro e higroscópico, com gosto doce, solúvel em água e álcool, insolúvel em éter e em clorofórmio (APOLINÁRIO *et al.*, 2012).

Por causa de suas características físicas e químicas, como por exemplo: não toxicidade, ausência de cor e odor, o glicerol puro exibe diferentes usos na indústria de cosméticos, farmacêuticas, detergentes, na fabricação de resinas e aditivos e na indústria de alimentos, além disso, do uso dos seus derivados na forma de ésteres, poliglicerina e resinas (PEITER *et al.*, 2016). Na (figura 4) podemos observar a distribuição percentual das aplicações mais usuais da glicerina.

Figura 4 - Usos tradicionais do glicerol



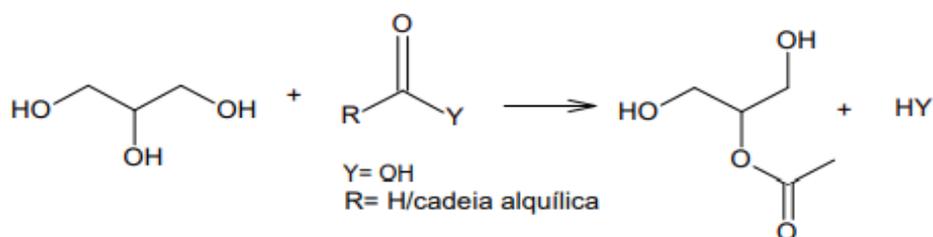
Fonte: (Beatriz *et al.*, 2011).

### 2.3 ÉSTERES DE GLICEROL

A esterificação é um procedimento químico para aquisição de ésteres mediante a reação de um ácido orgânico ou inorgânico com um álcool, onde há mudança de uma hidroxila de um ácido por um radical alcoxila do álcool com a eliminação de água (MELO JUNIOR, 2008). O meio mais utilizado é a reação de um ácido carboxílico com um álcool (SILVA *et al.*, 2010). Sendo assim, os Monoglicerídeos são surfactantes não iônicos, largamente usados nas fábricas farmacêuticas, de alimentos e de cosméticos. São principalmente monoésteres construídos por ácidos graxos e glicerol (RIBEIRO, 2009).

Monoésteres de glicerol podem ser elaborados pela esterificação do glicerol com ácidos carboxílicos bem como pela sua esterificação ou transesterificação com seus ésteres metílicos (figura 5). Eles podem ser utilizados como emulsificantes nas fábricas alimentícia, cosmética e farmacêutica (BEHR *et al.*, 2008).

Figura 5 - Síntese catalítica seletiva de monoglicerídeos

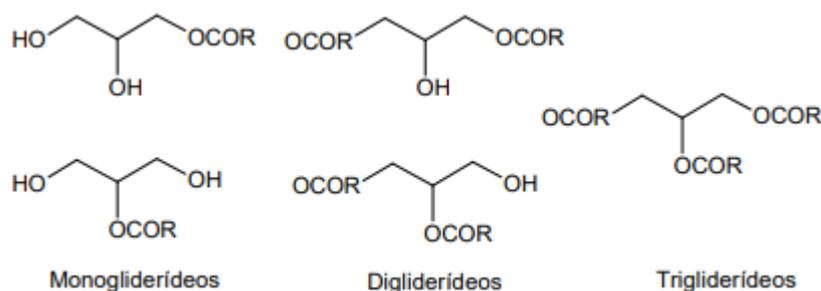


Fonte: BEHR *et al.*, 2008.

O monoacetilglicerol (MAG) por ser um líquido oleoso solúvel em água pode ser utilizado de muitos meios como: solvente para tintas, como agente plastificante e amolecedor e aditivo alimentar, (FUKUMURA, 2009).

A esterificação ou acetilação do glicerol com ácido acético produz mono, di e triacetinas (Figura 6) (RIBEIRO, 2009).

Figura 6 - alguns dos possíveis ésteres do Glicerol



Fonte: RIBEIRO, 2009

## 2.4 CATÁLISE ENZIMÁTICA

Para a produção de derivados do glicerol, pode utilizar os catalisadores enzimáticos, pois atuam em condições moderadas de reação e uma excelente especificidade possibilitando a reavaliação dos processos químicos atuais, além de estender o horizonte para novas tecnologias. As enzimas conseguem serem aplicadas na elaboração dos mais inúmeros produtos, como medicamentos, cosméticos, detergentes, alimentos, compostos orgânicos, polímeros e outros (BARRIOS, 2008).

Esse tipo de catalisador tem recebido cada vez mais a atenção da classe acadêmica e industrial. Uma vez que, seus processos e tecnologias são menos impactantes para o meio ambiente, que resulta no desenvolvimento de alternativas mais sustentáveis para diversos processos. Sendo assim, uma opção para a substituição do processo convencional, além de atender os objetivos das legislações referentes ao controle ambiental (STEINSTRAESSER, 2018).

Além disso, eles são catalisadores que contém por grandes cadeias de aminoácidos, são substâncias dos grupos das proteínas, que são encarregadas por catalisar as reações que acontecem nos sistemas biológicos. Devido à sua grande particularidade,

a sua aplicação diminui a formação de produtos indesejados, tornando seu uso muito importante do ponto de vista industrial, uma vez que catalisadores inorgânicos como ácidos, bases, óxidos e metais, além de produzirem subprodutos indesejáveis ainda podem mostrar grandes empecilhos de divisão dos produtos após a reação (RAIZER, 2015).

Os Análises realizados expõe que as enzimas são capazes de serem usadas como catalisadores na síntese de vários ésteres, em processos que indicam condições mais leves de temperatura, pressão e pH em comparação com os meios firmados (SKORONSKI *et al.*, 2010).

Desta forma Cruz Junior (2007) diz que a aplicação de enzimas imobilizadas como catalisadores de reações envolvendo triglicerídeos, apresenta desta forma, uma série de vantagens, tais como: maior estabilidade, necessidade de baixos teores de água e possibilidade de reutilização das enzimas em processos contínuos ou em grandes quantidades.

Conforme Sebrão *et al.*, (2007) a imobilização do catalisador sobre um suporte sólido, normalmente aumenta a estabilidade da enzima e facilita seu emprego por longos períodos sem renovação do catalisador. Os processos de imobilização podem ocorrer por adsorção ou ligação da enzima em um material insolúvel, pelo uso de um reagente multifuncional através de ligações cruzadas por confinamento em matrizes formadas por géis poliméricos por encapsulação em membranas poliméricas e em micelas reversas.

Este processo é eficiente em economia nos processos industriais e sem prejuízo de sua atividade por um período razoável de tempo, podendo assegurar sua repetida utilização ou mesmo o uso em reações contínuas (ZANOTTO, 2003).

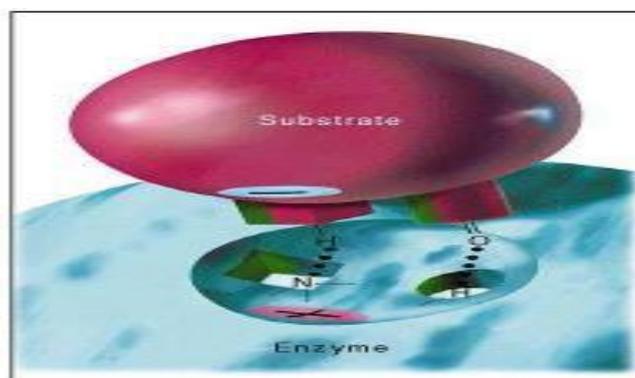
Uma enzima normalmente catalisa uma única reação química ou um conjunto de reações diretamente envolvidas. Reações colaterais que conduzem ao desperdício de criações de produtos secundários dificilmente acontecem. O grau de particularidade para o substrato é geralmente alto e, às vezes, absoluto. A agilidade de uma reação enzimática é motivada pela concentração do substrato, pH, concentração da enzima, temperatura e existência de ativadores ou inibidores (COSTA NETO, 2002; CASTRO *et al.*, 2004).

A vasta responsabilidade da força catalítica das enzimas deve-se à habilidade delas em compartilharem com o substrato em orientações favoráveis no complexo enzima substrato (ES). O substrato envolve-se no centro ativo da enzima e parte da especificidade catalítica da mesma depende em parte da natureza das ligações relacionadas. As enzimas contêm um “centro ativo”, onde se realiza as reações químicas. Logo, é formado de alguns

resíduos de aminoácidos da cadeia da proteína que se aproximam em íntima e mútua proximidade espacial (COSTA NETO, 2002).

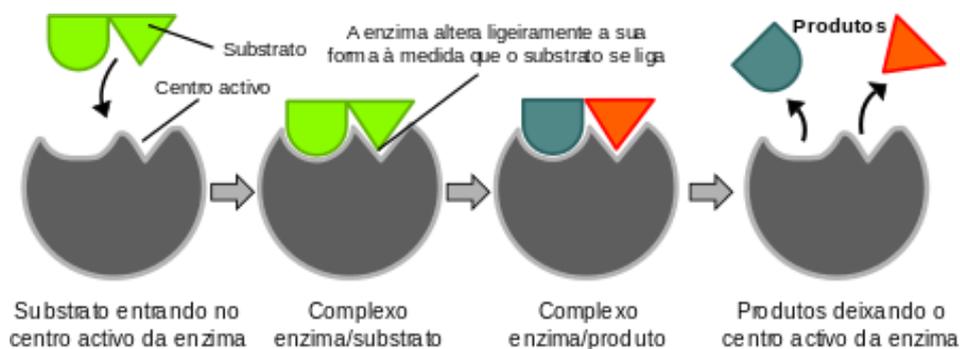
Para se adequar ao sítio ativo, um substrato deve ter um aspecto complementar a este, chamado como modelo chave e fechadura (Figura 7). No entanto, as estruturas dos sítios ativos de algumas enzimas são moderadamente alteradas pela união com o substrato. Os sítios ativos dessas enzimas têm formas que complementa à do substrato, mas somente depois de unidos. Esse procedimento de reconhecimento dinâmico é denominado de encaixe induzido (Figura 8) (ROSSET, 2011).

Figura 7 - Modelo da chave de fechadura



Fonte: (ROSSET, 2011).

Figura 8 - Modelo de encaixe induzido



Fonte: (ROSSET, 2011).

As enzimas têm a habilidade de catalisar uma vasta variedade de reações essenciais na síntese orgânica e são exclusivamente divididas em seis classes: oxidorreduções, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases (Quadro 1).

Quadro 1 - Classificação das enzimas

Classe	Tipo de reação
Oxirredutases	Reduções/Oxidações
Transferases	Transferência de grupos $A-(B) + C = A-C + (B)$
Hidrolases	Hidrólises e condensações
Liasas	Adições/ eliminações
Isomerases	Isomerizações
Ligases	Formação e clivagem de ligações C-X (como C-O, C-S e C-N)

Fonte: Enzyme Commission (SANTANIELLO, 1992).

### 2.4.1 Lipase

Dentre as classes de enzimas, temos as lipases que fazem parte de um grupo onde o interesse comercial tem aumentado, conforme a possibilidade de reverter sua maneira de atuação em meio orgânico, de tal forma que possa conduzir reações de esterificação e interesterificação. Tais reações são tem importância significativa para o desenvolvimento de novas rotas de processos, para obter novos ou conhecidos produtos, a custos mais competitivos ampliando (NYARI *et al*, 2014).

As lipases são enzimas ubíquas, que podem ser encontradas nos tecidos de vários micro-organismos, plantas e animais, além disso, apresenta papel fundamental no metabolismo e na digestão (STEINSTRASSER, 2018).

Essas enzimas catalisam naturalmente a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos, diacil gliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. Elas são usualmente estáveis em soluções aquosas neutras, e a maioria desenvolve atividade ótima na faixa de temperatura de 30 a 40°C (BASTIANELLO, 2011).

Além disso, a produção biotecnológica de ésteres com o uso das lipases tem recebido atenção devido às condições de reações brandas (pH e pressão) envolvidas, elas proporcionam elevado grau de pureza, sendo bem vistas e tendo a aceitação destes produtos na indústria de alimentos (NYARI *et al.*, 2014).

As lipases têm desempenho em vários segmentos, tais como, indústrias de detergente, alimentícia, têxtil, cosmética e farmacêutica. Porém, a diversidade de aplicações deriva, em parte, da extensa disponibilidade comercial dessas enzimas

(STEINSTRÆSSER, 2018). Portanto, no (Quadro 2) temos um resumo das principais lipases microbianas comercialmente disponíveis e seus fabricantes.

Quadro 2 - Enzimas microbianas comerciais.

Fabricante	Fontes de lipases microbianas comerciais
<i>Novozymes</i>	<i>Thermomyces lanuginosus</i> ; <i>Candida antarctica B</i> ; <i>Rhizomucor miehei</i> ; <i>Candida antarctica A</i> ; <i>Humicola lanuginosa</i>
<i>Genencor</i>	<i>Pseudomonas alcaligenes</i> ; <i>Pseudomonas mendocina</i>
<i>Amano.</i>	<i>Aspergillus niger</i> ; <i>Candida rugosa</i> ; <i>Penicillium Roqueforti</i> ; <i>Penicillium camemberti</i> ; <i>Pseudomonas fluorescens</i> ; <i>Rhizopus oryzae</i> ; <i>Mucor javanicus</i> ; <i>Rhizomucor miehei</i>

Fonte: SHU et al. (2010).

#### 2.4.2 Lipase de *Rhizomucor miehei*

No grupo da lipase temos a *Rhizomucor miehei* (RML), é uma enzima extracelular produzida pelo fungo, foi primeiramente caracterizada em 1973 e tem sido estudada em vários trabalhos acadêmicos, visto que foi a primeira lipase a ter a estrutura descrita de acordo com a resolução de 1,9 Å, e por ter o seu mecanismo de ativação interfacial ser bem conhecido (RODRIGUES, FERNANDEZ-LAFUENTE, 2010).

A RML é regioespecífica para as posições 1 e 3 da molécula de glicerol, eficiente para clivar glicerídeos compostos por ácidos graxos de cadeias curtas e longas (STEINSTRÆSSER, 2018).

### 3 METODOLOGIA

O presente projeto foi feito de acordo com a metodologia padrão. Antes de iniciar as reações foi retirado 10  $\mu\text{L}$  do glicerol P.A. para análise de pureza do reagente, a análise foi feita na Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM). Está se utilizando a glicerina P.A. para diminuir a variabilidade, pois os experimentos feitos foram para a fase inicial, para a escolha do solvente e a enzima como catalisador, futuramente se utilizará o glicerol oriundo do biodiesel.

#### 3.1 PREPARAÇÃO DOS SOLVENTES

Foram retirados 50 ml de cada um dos solventes: hexano, acetona, tetraidrofurano e iso-octano, após foi adicionado 10 g de sulfato de sódio anidro, por fim foi filtrado até a retirada da água contida nos solventes.

Figura 9 - secagem dos solventes



Fonte: autoria própria, 2020

#### 3.2 REAÇÃO ENZIMÁTICA

##### 3.2.1 Escolha das enzimas

As reações com três enzimas encapsuladas e uma livre procederam-se da seguinte forma: 30  $\mu\text{L}$  de ácido acético, 20 mg de enzima, 10  $\mu\text{L}$  do glicerol e para cada reação 1ml de solvente hexano, acetona, iso-octano e tetraidrofurano (THF), as enzimas encapsuladas foram as comerciais, *Thermomyces lanuginosus* (TLL), *Rhizomucor miehei*

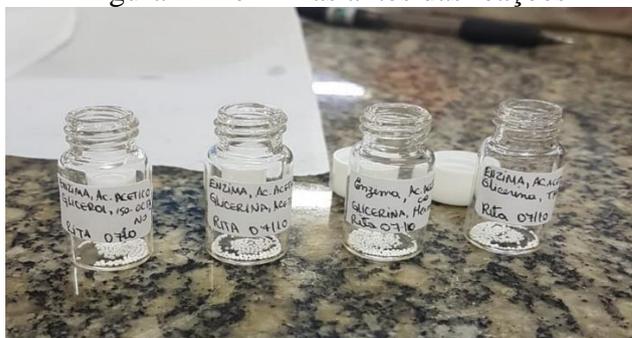
(RML), *Candida antarctica* do tipo B (CALB) novozyme e a enzima livre Amano lipase, e os demais catalisadores estavam imobilizados, as quais permaneceram sob agitação à 40 °C em um equipamento improvisado (Figura 10) com retirada de alíquota de 24h para análises na cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM).

Figura 10 - reações em agitação e aquecimento



Fonte: autoria própria 2020

Figura 11 - enzimas antes das reações



Fonte: autoria própria, 2020

Figura 12 - reações com biocatalisadores



Fonte: autoria própria, 2020.

### 3.2.2 Escolha dos solventes

As reações de esterificação procederam-se pela catalise da enzima encapsulada *Novozyme* com adição de 20 mg, 30  $\mu$ L de ácido acético, 10  $\mu$ L do glicerol e 1 ml dos solventes utilizados em cada reação que foram: hexano, acetona, tetraidrofurano (*THF*) e iso-octano, ambos permaneceram sob agitação à 40 °C com retirada de alíquotas de 24 horas e 48 horas para que tenha obtenção de um ou mais esteres.

Figura 13 - solventes usados nas reações



Fonte: autoria própria, 2020.

## 3.3 CARACTERIZAÇÕES DOS PRODUTOS

### 3.3.1 Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)

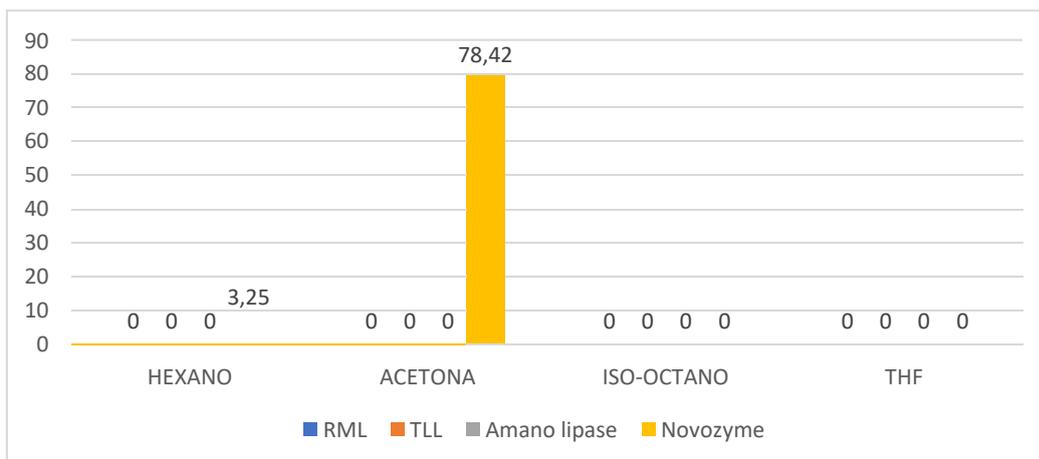
Cromatografia Gasosa acoplada ao Espectro de Massas (CG-EM) o qual, antes de injetar as amostras as mesmas foram diluídas, adicionando-se 5  $\mu$ L de hexano com exceção da glicerina pura que foi diluída com álcool metílico P.A. A corrida iniciou-se em 100 °C e após 3 minutos a temperatura aumentou de 100 para 250 °C a uma velocidade de 10 °C por minuto, mantendo-se a temperatura final de 250 °C por 20 minutos. O tempo total de análise no equipamento foi de 38 minutos. Utilizou-se coluna capilar apolar (modelo VF-5ms), de 30 m de comprimento, 0,25 mm de espessura externa e 0,25  $\mu$ m de espessura interna.

Figura 14 - Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG/EM)



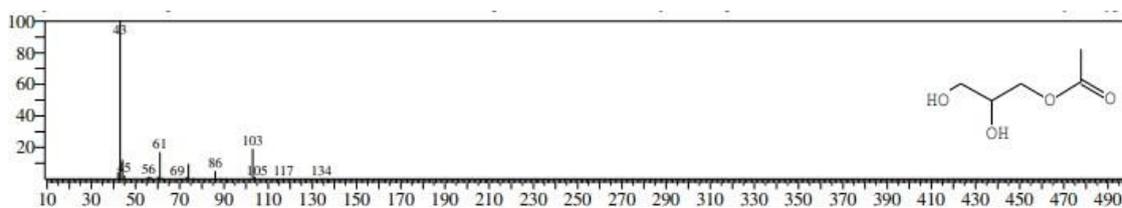
Fonte: Central Analítica IQ-USP, 2014.



Gráfico 01 - Resultado da variação de enzimas na reação de esterificação do *Glicerol*

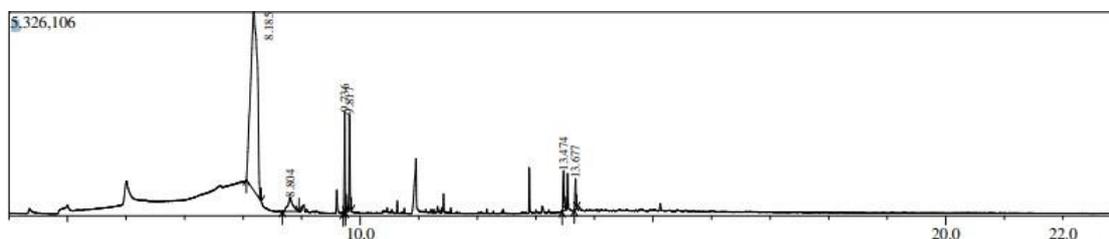
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 16 - Espectro de massa do Monoacetilglicerol



Fonte: elaborado pelo autor.

A espectroscopia de massa (Figura 16) confirmou a produção do Monoacetilglicerol, com a presença do pico íon molecular em m/z 134, compatível com massa molecular esperada para o Monoacetilglicerol.

Figura 17 - Pico da reação de esterificação catalisada com a enzima *Novozyme*.

Fonte: elaborado pelo autor

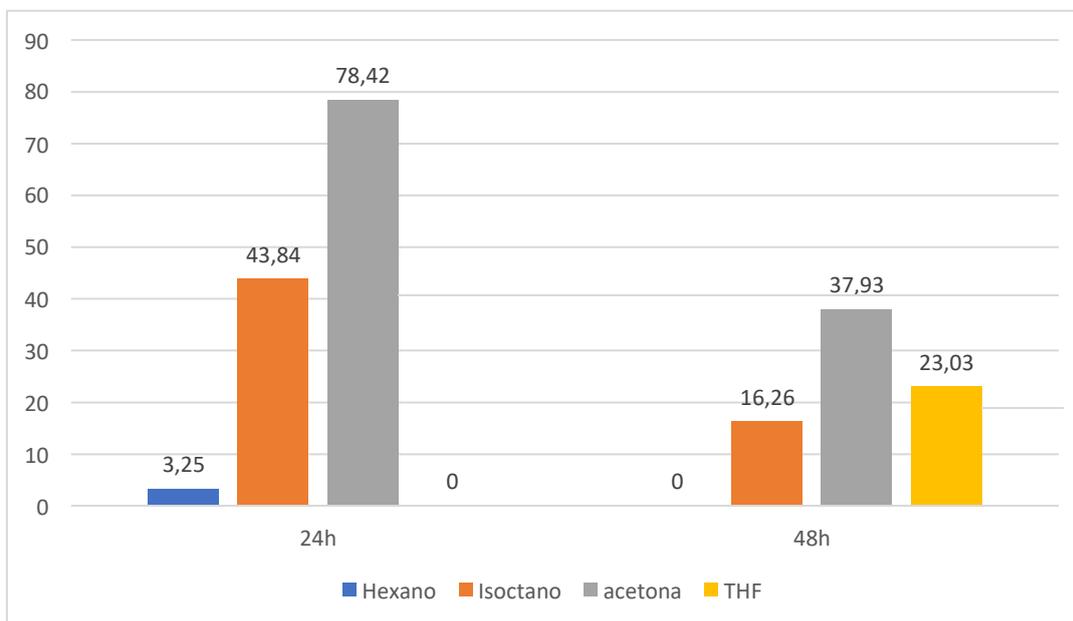
No cromatograma (Figura 17) da reação após o período de 24 horas é possível perceber o do Monoacetilglicerol, com tempo de retenção de aproximadamente 8 min.

#### 4.2 ANÁLISE DOS SOLVENTES COM A ENZIMA *NOVOZYME* EM FUNÇÃO DO TEMPO.

Os resultados do gráfico 02, foram obtidos através da análise em CG/EM, a *Novozyme* imobilizada com 24 horas reagiu consideravelmente com a acetona com conversão de 78,42%, com 48 horas com conversão de 37,93%, comparado aos demais solventes que não reagiram estes tem uma porcentagem considerável, logo a *Novozyme* com a acetona tem potencial de aplicação na síntese de ésteres por ter formado o produto monoacetina com 24 horas de reação como mostrado na (figura 18) e com um resultado após 48 horas a diacetina (figura 20) tem um valor de conversão de 2,62% e a triacetina (figura 21) com um valor de conversão de 20,95%.

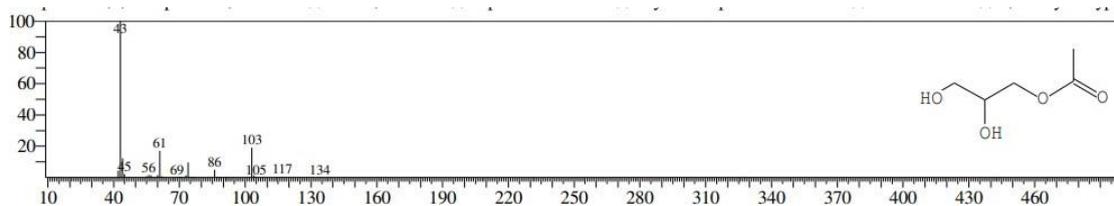
A redução de conversão de 48 horas se dá devido a mais produtos reagidos que foram o mono, di e triacetina. Em quanto a conversão de 24 horas é maior por ter formado um único produto que foi o monoacetil.

Gráfico 2 - Reações Com Diferentes Solventes Com Variação De Tempo



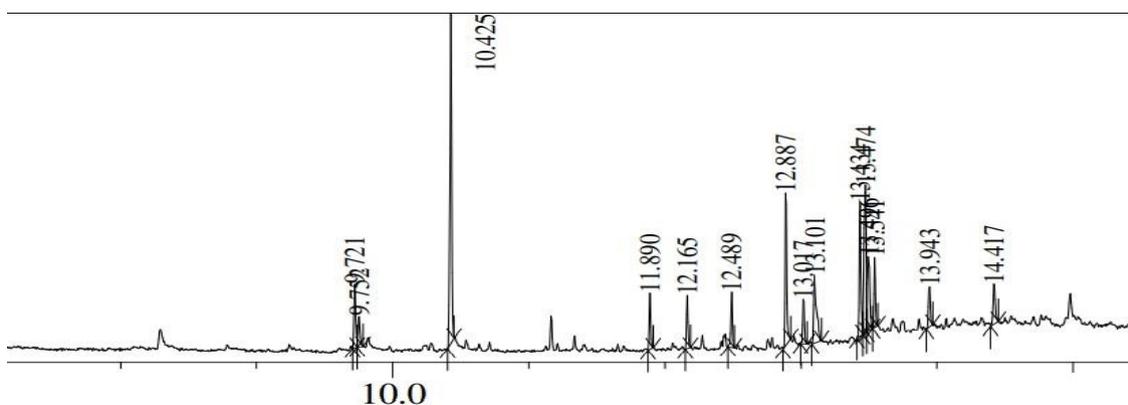
Fonte: elaborado pelo autor.

Figura 18 - Espectro de massa do Monoacetilglicerol



Fonte: elaborado pelo autor.

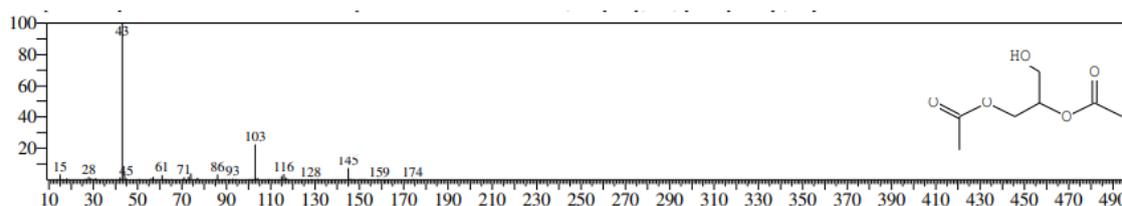
A espectroscopia de massa (Figura 18) confirmou a produção do Monoacetilglicerol, com a presença do pico íon molecular em m/z 134, compatível com massa molecular esperada para o Monoacetilglicerol.

Figura 19 - Pico da reação de esterificação catalisada com a enzima *Novozyme*.

Fonte: elaborado pelo autor.

No cromatograma (Figura 19) da reação após o período de 48 horas é possível perceber o *do* Monoacetilglicerol, com tempo de retenção de aproximadamente 9,721 minutos, a diacetilglicerol com retenção de aproximadamente 9,752 minutos e o triacetilglicerol com retenção de 10,425 minutos.

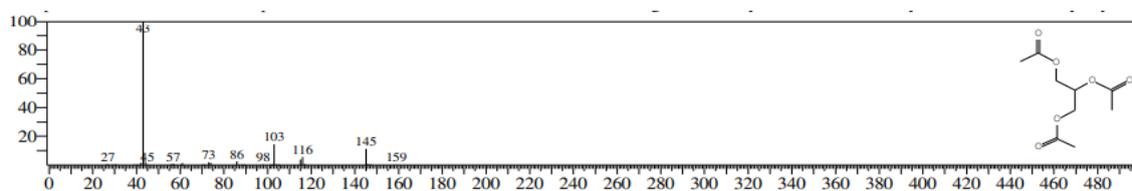
Figura 20 - Espectro de massa do diacilglicerol



Fonte: elaborado pelo autor.

A espectroscopia de massa (Figura 20) confirmou a produção do *glicerol 1,2, diacetato*, com a presença do pico íon molecular em  $m/z$  176, compatível com massa molecular esperada para o *diacetato*.

Figura 21 - Espectro de massa do triacilglicerol



Fonte: elaborado pelo autor.

A espectroscopia de massa (Figura 21) confirmou a produção do *triacetilglicerol* com a presença do pico íon molecular em  $m/z$  218, compatível com massa molecular esperada para o *triacetato*.

## 5 CONCLUSÕES

De acordo com as análises dos catalisadores os resultados obtidos a *Novozyme* imobilizada reagiu com a acetona tendo uma conversão de 78,42%, o qual é considerado um valor mais promissor, mostrando a eficiência de catálise da enzima lipase CALB *Novozyme* sintetizando ésteres monoacetilglicerol. E de solventes em função do tempo se teve grandes percentuais de conversão do glicerol, com 24 horas reagiu consideravelmente com a acetona com conversão de 78,42% e com 48 horas com conversão de 37,93%, comparado os demais solventes que não reagiram. Logo a *Novozyme* com a acetona tem potencial de aplicação na síntese de ésteres por ter formado o produto monoacetina, diacetina e triacetina. Deste modo o uso da enzima imobilizada e a acetona foi viável no processo de esterificação na obtenção de ésteres, logo o uso da enzima imobilizada deixa os resultados mais limpos sem necessidades de haver uma purificação, e podendo reutilizar a enzima em novas reações.

As reações de esterificação são essenciais para a síntese de ésteres em consequência da grande necessidade desses compostos. Os quais tem potencial de uso industrial e tecnológico através do uso de catalisadores enzimáticos.

## REFERÊNCIAS

- ARAÚJO, G **Produção de biodiesel do Brasil cresce 8,5% em 2020, diz Abiove.** Notícias Agrícolas. São Paulo 30/10/2020. Política e Economia. Disponível em: <https://www.noticiasagricolas.com.br/noticias/politica-economia/272575-producao-de-biodiesel-do-brasil-cresce-85-em-2020-diz-abiove.html#.YDA0kOhKjIU>. Acesso em : 19 Fevereiro 2021.
- APOLINÁRIO, F. D. B.; PEREIRA, G. F.; FERREIRA, J. P. **Biodiesel e Alternativas para utilização da glicerina resultante do processo de produção de biodiesel.** Bolsista de Valor: Revista de divulgação do Projeto Universidade Petrobras e IF Fluminense v. 2, n. 1, p. 141-146, 2012.
- BABICZ, I. **Produção de diacilgliceróis via hidrólise enzimática do óleo de palma.** Tese (Dissertação de mestrado em ciências e tecnologia de processos químicos e bioquímicos) — Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, 2009.
- BARRIOS, S. B.; **Síntese De Resinas Alquídicas Via Catálise Enzimática.** Dissertação para a obtenção do grau de Mestre em Química- Universidade Federal Do Rio Grande Do Sul Instituto De Química Programa De Pós-Graduação Em Química- Porto Alegre, Dezembro de 2008.
- BASTIANELLO R. T. **Síntese de biodiesel via catálise enzimática em meio orgânico e em líquidos iônicos.** Monografia para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente, da Universidade Federal do Pampa. Bagé, 2011
- BEATRIZ, A.; ARAÚJO, Y. J. K.; LIMA, D. P. **Glicerol: um breve histórico e aplicação em sínteses estereosseletivas.** Campo Grande - MS, Brasil: Quim. Nova, Vol. 34, No. 2, 306-319, 2011.
- BEHR, A.; EILTING, J.; IRAWADI, K.; LESCHINSKI, J.; LINDNER, F. **Improved utilization of renewable resources: new important derivatives of glycerol.** Green Chem., 2008, 10, 13-30.
- BESSA, A. M. M. **Produção de biodiesel a partir de óleo residual de fritura utilizando o líquido iônico hidróxido de colina como catalisador.** 2015. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2015.
- CARVALHO, K. G. P.; **processo de cetalização da glicerina para obtenção do solketal (2,2-dimetil-1,3-dioxolano-4-il) metanol.** Dissertação de mestrado, Universidade Federal De Pernambuco Centro De Tecnologia E Geociências Programa De Pós-Graduação Em Engenharia Química. Recife/PE, 2016.
- CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; AGUIAR, C. L. **Modificação de óleos e gorduras por biotransformação.** Química Nova, v. 27, n.1, pp.146-156, 2004
- CHRISTOFF, P. **Produção de biodiesel a partir do óleo residual de fritura comercial.** 2006. 66 f. Tese (Doutorado) - Curso de Tecnologias Energéticas, Instituto de Tecnologia Para O Desenvolvimento – Lactec, Curitiba, 2006.

COSTA, A. K. M. **Extração, isolamento e modificação química dos ácidos anacárdicos presentes nas cascas da castanha de caju *anacardium occidentale* L. e avaliação do seu potencial antioxidante e antibacteriano.** 2018. 59 f. Monografia (Especialização) - Curso de Licenciatura em Química, Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte, Apodi, 2018.

COSTA NETO, P. R. **Obtenção de ésteres alquílicos (biodiesel) por via enzimática a partir do óleo de soja.** Tese de Doutorado, universidade Federal de Santa Catarina centro de ciências físicas e matemáticas departamento de química curso de pós-graduação em química Florianópolis, Santa Catarina, Brasil, Junho/2002.

COSTA NETO, P. R.; ROSSI, L.F.S. **Produção de Biocombustível Alternativo ao Óleo Diesel Através da Transesterificação de Óleo de Soja Usado em Frituras.** In: Revista química nova, n.23, ano 4, 2000. p.531.

CRUZ JUNIOR, A. **Imobilização de lipase de *Candida antarctica* B em Quitosana para obtenção de biodiesel por Transesterificação do óleo de mamona.** Dissertação de Mestrado, UFSC- Florianópolis, 18 de julho de 2007.

DASARI, M.A.; KIATSIMKUL, P.P.; SUTTERLIN, W.R.; SUPPES, G.J. **Low-pressure hydrogenolysis of glycerol to propylene glycol.** *Applied Catalysis A: General*, v. 281, n. 1, p. 225-231, 2005. *Renováveis*, v.5, n.4, p.519-537, 2016.

FOGAÇA, J. R. V. **"Reações de Transesterificação"; *Brasil Escola*.** Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/reacoes-transesterificacao.htm>. Acesso em 04 de fevereiro de 2021.

FREITAS L.; BUENO T.; CASTRO H. F. **Esterificação Enzimática Do Glicerol Com Ácido Láurico Em Meio Isento De Solventes Empregando Lipase Imobilizada.** Faculdade de Engenharia Química de Lorena, Lorena-SP. VII Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e IV Encontro Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba, 2004.

FREIRE, H.P.; SANTOS, M. **Bioquímica para estudantes das áreas de Ciências Biológicas e da Saúde.** Passos - MG: EDIFESP, 156 p. 2019.

FUKUMURA, T. Catalytic synthesis of glycerol monoacetate using a continuous expanded bed column reactor packed with cation-exchange. *Industrial & Engineering Chemistry*, v. 48, p. 1816-1823, 2009.

GERIS, R.; SANTOS, N. A. C.; AMARAL, B. A.; MAIA, I. S.; DOURADO, V.C.; CARVALHO, J. R. M. **Biodiesel de soja – reação de transesterificação para aulas práticas de química Orgânica.** *Quim. Nova*, Vol. 30, No. 5, 1369-1373, Salvador – BA, Brasil. 2007.

KNOTHE, G.; VAN, J. G.; KRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel. Matérias primas alternativas e tecnologias para a produção de biodiesel.** 1 ed. São Paulo: Editora Egdgard Blücher LTDA, p. 46-61, 2006.

LÔBO, I. P.; FERREIRA, S. L. C.; CRUZ, R. S. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, [s.l.], v. 32, n. 6, p.1596-1608, 2009. Fap UNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0100-40422009000600044>.

LOPES, D. V. M. **Acetilação Catalítica De Compostos Polihidroxiados (Glicerina) Com Obtenção De Ésteres De Glicerol**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química - Recife – PE, Março 2015.

MELLO JÚNIOR, C. A. R. **Esterificação Catalítica e Não-Catalítica para Síntese do Biodiesel em Reator Microondas**. Dissertação (Pós-Graduação em Engenharia de Processos), Universidade Tiradentes, Aracaju, 2008.

MENDES, D. B.; VALDÉS, J. C. Glicerina: uma abordagem sobre a produção e o tratamento. **Revista Liberato**, Novo Hamburgo, v. 13, n. 20, p. 01-XX, jul./dez. 2012.

MOTA, C. J. A.; SILVA, C. X. A.; GONÇALVES, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. **Quim. Nova**, Vol. 32, No. 3, 639-648, Instituto de Química, Universidade do Rio de Janeiro – RJ, 2009.

NYARI, N. L. D. et al. **aplicação da lipase Candida Antarctica b imobilizada em PHBV e PU na catálise de reações de síntese**. Congresso Brasileiro de engenharia química. Florianópolis/ SC, outubro, 2014.

PAGLIARO, M. R.; CIRIMINNA, H.; KIMURA, M.; ROSSI, C. D. From glycerol to value-added products. **Angewandte Chemie International Edition**, v. 119, p. 4516-4522, 2007.

PEITER, G. C.; ALVES H. J.; SEQUINEL, R.; BAUTITZ, I. R. Alternativas para o uso do glicerol produzido a partir do biodiesel. **Revista Brasileira de Energias Renováveis**, v.5, n.4, p.519-537, 2016.

P. San Kong et al., RSC Adv. 2016, 73, 68885-68905.

P.U. Okoye; B.H. Hameed, Renew. Sust. Energ. Rev. 2016, 53, 558-574.

RAIZER, E. **Uso de ultrassom na síntese de diacilglicerol via hidrólise enzimática de óleo de girassol**. Dissertação de Mestrado, universidade estadual do oeste do Paraná centro de engenharias e ciências exatas-Toledo-PR fevereiro, 2015.

RIBEIRO, F. **Estudo das transformações químicas da glicerina sob irradiação de micro-ondas visando seu reaproveitamento como aditivo ao biodiesel**. Dissertação. Universidade Federal de Mato-Grosso, Cuiabá/MT, Brasil. 2009.

RODRIGUES, R. C.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from *Rhizomucor miehei* as an industrial biocatalyst in chemical process. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 64, n.1-2, p. 1-22, 2010.

ROSSET, I. G. **Produção de biodiesel empregando biocatálise via reações de esterificação e transesterificação**. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo instituto de química de são Carlos, São Carlos, 2011.

SANTANIELLO, E.; FERRABOSCHI, P.; GRISENTI, P.; MANZOCCHI, A. The biocatalytic approach to the preparation of enantiomerically pure chiral building locks. **Chemical Reviews**, v. 92, n. 5, p. 1071-1140, 1992.

SEBRÃO, D.; SILVA, V. D.; NASCIMENTO, M. G.; MOREIRA, A. M. Imobilização de lipases em filme de caseinato de sódio/glicerol: aplicação na síntese de ésteres. Florianópolis – SC, Brasil: **Quim. Nova**, Vol. 30, No. 5, 1182-1187, 2007.

SHU, Z.; JIANG, H.; LIN, R.; JIANG, Y.; LIN, L.; HUANG, J. Technical methods to improve yield, activity and stability in the development of microbial lipases. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 62, n. 1, p. 1-8, 2010.

SKORONSKI, E.; et al.; Estudo Cinético da Obtenção de Ésteres Utilizando Enzima Lipozyme TL IM como Catalisador. **Ciência e Tecnologia de Alimentos de Campinas**. v. 30 n. 4, 2010.

STEINSTRÄESSER, G. C.; **Esterificação do glicerol e ácido caprílico catalisada por lipase em regime descontínuo e descontínuo-alimentado**. 2018. 98f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia Bioquímica-Farmacêutica) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2018.

SUAREZ, P. A. Z.; SANTOS, A. L. F.; RODRIGUES J. P.; ALVES M. B. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova** v.32, n.3, p. 768-775, 2009.  
[http://ca.iq.usp.br/novo/paginas\\_view.php?idPagina=12](http://ca.iq.usp.br/novo/paginas_view.php?idPagina=12), pesquisado dia 14/01/2021.

ZANOTTO, S. P.; **Utilização De Enzimas E Microrganismos Para A Obtenção De Compostos Óticamente Ativos**. 2003. 98 f. Tese (Doutorado) - Curso de Química, Universidade Federal de Santa Catarina Centro de ciências físicas e matemáticas Curso de pós-graduação em química, Florianópolis, 2003.