

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**LUCAS BORGES MATHEUS**

**RAYNARA PEREIRA DA SILVA**

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES  
DE ÓLEO FÚSEL E ÁCIDO DECANÓICO E APLICAÇÃO  
COMO EMULSIFICANTES**

**ALFENAS - MG  
2025**

**LUCAS BORGES MATHEUS**

**RAYNARA PEREIRA DA SILVA**

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES  
DE ÓLEO FÚSEL E ÁCIDO DECANÓICO E APLICAÇÃO  
COMO EMULSIFICANTES**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química com atribuições tecnológicas pela Universidade Federal de Alfenas.  
Orientador: Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

Matheus, Lucas Borges .

Otimização da produção enzimática de ésteres de óleo fúsel e ácido decanoico e aplicação como emulsificantes / Lucas Borges Matheus, Raynara Pereira da Silva. - Alfenas, MG, 2025.

40 f. : il. -

Orientador(a): Adriano Aguiar Mendes.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química) -  
Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2025.

Bibliografia.

1. Lipases. 2. Otimização. 3. Ácido decanoico. 4. Óleo fúsel. 5. Esterificação. I. Silva, Raynara Pereira da. II. Mendes, Adriano Aguiar, orient. III. Título.

**LUCAS BORGES MATHEUS**

**RAYNARA PEREIRA DA SILVA**

**OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES  
DE ÓLEO FÚSEL E ÁCIDO DECANÓICO E APLICAÇÃO  
COMO EMULSIFICANTES**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação do Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Química pela Universidade Federal de Alfenas.


Aprovada em: 04 de Dezembro de 2025

Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes  
Universidade Federal de Alfenas

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Danielle Ferreira Dias  
Universidade Federal de Alfenas

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Joelise de Alencar Figueira Angelotti  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Documento assinado digitalmente  
 **ADRIANO AGUIAR MENDES**  
Data: 18/12/2025 21:50:47-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

**ALFENAS/MG**

**2025**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradecemos primeiramente à todos os professores e colegas que nos acompanharam até aqui, nos incentivando e dando apoio.

Aos nossos pais, que mesmo de longe, sempre foram colo e nos fizeram acreditar e a persistir nesse caminho, sem eles nada disso seria possível.

A todas as pessoas que estiveram conosco em todos os momentos. Em especial, Giovana e Karen, que compartilharam momentos importantes de nossa trajetória

Aos nossos amigos de laboratório, principalmente ao Felipe, que esteve conosco em toda a realização deste trabalho.

A todos amigos que participaram dessa jornada com a gente, em especial a Caren, que marcou nossas vidas com todo seu amor e companheirismo.

E ao nosso querido orientador, prof Dr Adriano Aguiar Mendes, que nos acolheu e nos deu essa oportunidade. Agradecemos do fundo do coração, por todos os ensinamentos até aqui!

## RESUMO

O objetivo deste estudo consistiu na otimização do processo de esterificação do ácido decanoico (AD) com óleo fúsel (OF) em sistemas isentos de solventes orgânicos. A reação foi catalisada pela lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada por ativação interfacial (adsorção hidrofóbica) em partículas de poli(estireno-divinilbenzeno) (PEDB). O efeito de relevantes fatores na reação como razão molar AD:OF, temperatura e concentração de biocatalisador foi avaliado por análise estatística delineamento composto central rotacional (DCCR). A imobilização resultou em carga proteica de  $31 \pm 2,4 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ , indicando boa afinidade da enzima com o suporte, via ativação interfacial. Máxima conversão de AD da ordem de 85% foi alcançada após 90 min de reação conduzida nas condições ótimas (35,5 °C, razão molar AD:OF de 1:3 e concentração de biocatalisador de 25% m.m<sup>-1</sup>). A confirmação da formação dos ésteres aparecem na banda em  $1167 \text{ cm}^{-1}$  referente à vibração de estiramento do grupo éster e através da Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE) obteve-se com sucesso o abaixamento da fusão que também confirma a presença do grupo éster. Além disso, os ésteres obtidos foram empregados como emulsificante em um sistema água/óleo de coco. O seu desempenho foi comparado com emulsificantes comerciais como Tween 20 e detergente comercial (lava louça). Os ésteres produzidos obtiveram um melhor desempenho como emulsificantes do que os obtidos comercialmente a 50 °C após 48 h (índice de emulsificação de 62%, 2 vezes maior que Tween 20 e 6 vezes maior que o detergente lava louça). Estes resultados indicam a potencial aplicação destes novos ésteres como emulsificantes não iônicos em emulsões água-óleo e possíveis candidatos a estarem presentes em formulações cosméticas e alimentícias.

**Palavras-Chave:** Ésteres, Otimização, Emulsificantes, Lipases.

## ABSTRACT

The objective of this study was the optimization of the esterification process of decanoic acid (DA) with fusel oil (FO) in organic solvent-free systems. The reaction was catalyzed by the lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0) immobilized by interfacial activation (hydrophobic adsorption) onto poly(styrene-divinylbenzene) (PSDB) particles. The effect of relevant reaction factors—such as DA:FO molar ratio, temperature, and biocatalyst concentration—was evaluated by statistical analysis using a rotational central composite design. The immobilization resulted in a protein loading of  $31 \pm 2.4 \text{ mg.g}^{-1}$ , indicating good affinity of the enzyme for the support via interfacial activation. A maximum DA conversion of approximately 85% was achieved after 90 minutes of reaction conducted under optimal conditions 35.5°C, a DA:FO molar ratio of 1:3, and a biocatalyst concentration of 25% w.t. The formation of esters is confirmed by the band at  $1167 \text{ cm}^{-1}$  corresponding to the stretching vibration of the ester group and the melting point depression was successfully obtained through DSC, which also confirms the presence of the ester group. Furthermore, the obtained esters were employed as an emulsifier in a water/coconut oil system. Its performance was compared with commercial emulsifiers such as Tween 20 and a commercial detergent (dishwashing liquid). The produced esters showed better performance as emulsifiers than the commercially obtained ones at 50°C after 48h (an emulsification index of 62%, 2 times higher than Tween 20 and 6 times higher than the dishwashing detergent). These results indicate the potential application of these new esters as non-ionic emulsifiers in oil-water emulsions and potential candidates that are present in cosmetic and food formulations.

**Keywords:** Esters, Optimization, Emulsifier, Lipases.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura de diferentes tipos de emulsificantes.....	14
Figura 2 - Representação de mecanismo de esterificação enzimática catalisada por lipases.....	17
Figura 3 - Mecanismo de ativação interfacial de Lipases.....	18
Figura 4 - Relação entre porcentagem de conversão predita e experimental em 15 minutos do ácido decanóico. ....	25
Figura 5 - Superfície de resposta de conversão para produção enzimática de ésteres derivados do ácido decanoico. (A) Superfície de resposta e curva de contorno: Razão molar AG:OF x temperatura; (B) Superfície de resposta e curva de contorno: Razão molar AG:OF x biocatalisador imobilizado. ....	28
Figura 6 - Produto majoritário referente a reação de esterificação entre o ácido decanoico e óleo fúsel.....	30
Figura 7 - Efeito do tempo na produção enzimática dos ésteres de óleo fúsel utilizando lipase imobilizada e livre. ....	31
Figura 8 - Gráfico de Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE).....	32
Figura 9 - Caracterização dos ésteres de óleo fúsel por (EITF). ....	33
Figura 10 - Avaliação das propriedades emulsificantes dos ésteres de óleo fúsel. ....	34

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Parâmetros utilizados para o planejamento experimental .....	24
Tabela 2- Relação entre as variáveis independentes e os valores de conversão experimentais obtidos em 15 minutos de reação. ....	24
Tabela 3 - Coeficientes de regressão, erro padrão e valor p para o modelo proposto. ....	2
Tabela 4 - Análise de variância para o modelo proposto na síntese enzimática de ésteres. ....	26

## LISTA DE SIGLAS

AD	Ácido decanoico
AG	Ácido graxo
AGL	Ácidos graxos livres
Asp	Aspartato
CALB	Lipase de <i>Candida antártica</i> B
CAPES	Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior
CDE	Calorimetria Diferencial Exploratória
DCCR	Delineamento Experimental Composto Rotacional
DMSO	Dimetilsulfóxido
EC 3	Hidrolases
EITF	Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier
ET2.0	Eversa <sup>®</sup> Transform 2.0
EUA	Estados Unidos da América
Glu	Glutamato
His	Histidina
LCR	Lipase de <i>Candida rugosa</i>
LTL	Lipase de <i>Thermomyces lanuginosus</i>
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
OF	Óleo fúsel
PEDB	Poli (estireno-divinilbenzeno)
pH	Potencial de hidrogênio iônico
PI	Proteína imobilizada
Ser	Serina

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
2.1 OBJETIVOS GERAIS .....	12
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>13</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>20</b>
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
5.1 IMOBILIZAÇÃO DA LIPASE EVERSA TRANSFORM 2.0® POR ADSORÇÃO FÍSICA.....	23
5.2 OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL .....	23
5.3 EFEITO DO TEMPO PARA PRODUÇÃO DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL .....	30
5.4 ANÁLISE TÉRMICA DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL .....	31
5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (EITF).....	33
5.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES EMULSIFICANTES DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL SINTETIZADOS .....	34
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>37</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Ácido decanoico (AD) é um ácido carboxílico de ocorrência natural obtido preferencialmente de óleos láuricos como coco e palmiste (Bolina *et al.*, 2021). Recentes estudos demonstram suas excelentes propriedades como agente antimicrobiano, anti-inflamatório, antioxidante, neuroprotetor e anti-apoptótico (Sharma *et al.*, 2023). Neste contexto, AD tem sido amplamente empregado como matéria-prima na produção de importantes compostos, em destaque ésteres com aplicações industriais (Lamba *et al.*, 2018; Roque *et al.*, 2025; Sharma *et al.*, 2023). Estes ésteres podem ser produzidos empregando catalisadores químicos clássicos ou enzimas (lipases) (Lamba *et al.*, 2018; Mattos *et al.*, 2023; Roque *et al.*, 2025). Dentre eles, a rota enzimática tem sido a melhor alternativa por se tratar de um processo tecnologicamente limpo, pois é conduzida em condições moderadas de temperatura e pressão. Além disso, estes biocatalisadores reduzem os grandes volumes de efluentes líquidos nos processos de separação e purificação dos produtos obtidos devido à alta seletividade, ou seja, há uma redução na formação de subprodutos (Bolina *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2019).

Lipases são aplicadas preferencialmente na forma imobilizada, confinadas na superfície de materiais suportes (Bolina *et al.*, 2021; Rodrigues *et al.*, 2019). Essas enzimas têm sido imobilizadas por diferentes protocolos como encapsulação, adsorção física e ligação covalente.

Entretanto, a adsorção física em suportes hidrofóbicos é uma estratégia promissora porque promove a hiperativação e estabilização de lipases em conformação aberta. Este protocolo é baseado na ativação interfacial de lipases no qual permite o reuso do suporte por dessorção de moléculas de enzima inativas. Além disso, este protocolo possibilita a purificação de lipases presentes em extratos enzimáticos brutos por adsorção seletiva em baixa força iônica (Rodrigues *et al.*, 2019).

Neste contexto, a proposta deste trabalho de conclusão de curso consiste na produção otimizada de ésteres de óleo fúsel por esterificação direta do ácido com óleo fúsel em meios isentos de solventes. A lipase de *Thermomyces lanuginosus* produzida por uma cepa geneticamente modificada de *Aspergillus oryzae* (Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0) foi empregada como biocatalisador. Esta lipase de baixo custo tem sido largamente aplicada na produção de biodiesel por transesterificação de óleos e gorduras (Carvalho *et al.*, 2021). Os ésteres obtidos foram aplicados como emulsificante em um sistema óleo de coco/água, em que a hipótese deste trabalho é que estes ésteres apresentem propriedades emulsificantes. Em consulta à base de Scopus, a produção enzimática destes ésteres ainda não foi reportada pela literatura.

Este trabalho está alinhado com os objetivos 09, 12, 13, 14 e 15 da ODS (Objetivos de Desenvolvimento Sustentável), em que se busca: promover a industrialização inclusiva e sustentável (09), assegurar padrões de produção e consumo sustentáveis (12), adotar medidas para combater o aquecimento global (13), a conservação e uso sustentável dos oceanos, mares e vida marinha (14) e incentivar o uso sustentável dos ecossistemas terrestres (15). Portanto, este trabalho pretende promover contribuições para a sociedade e para a indústria química nacional.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVOS GERAIS

Produzir ésteres de matérias-primas renováveis (ácido decanóico e óleo fúsel) por esterificação enzimática e avaliar suas propriedades emulsificantes.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- A. Preparar e caracterizar o biocatalisador por imobilização de lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 em partículas hidrofóbicas de poli(estireno-divinilbenzeno);
- B. Otimizar a reação de esterificação do ácido decanoico e do óleo fúsel por Delineamento Experimental Composto Rotacional (DCCR);
- C. Avaliar a propriedade emulsificante dos ésteres produzidos comparando com outros emulsificantes comerciais.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 OS EMULSIFICANTES

Segundo o relatório do Kings Research, o mercado global de emulsificantes avaliado em US\$ 9,22 bilhões em 2023, demonstra um crescimento projetado para atingir US\$ 15,84 bilhões até 2031. Este crescimento é impulsionado principalmente pela crescente demanda global por alimentos processados. Além disso, o relatório aborda uma tendência significativa no setor para o uso de emulsificantes naturais e de origem vegetal, como a lecitina, em resposta à preferência do consumidor por rótulos limpos, e maior foco em saúde e sustentabilidade

Os emulsificantes são substâncias que auxiliam na redução da tensão superficial em sistemas bifásicos heterogêneos formados por duas fases imiscíveis (Gao *et al.*, 2025). Sua estrutura química apresenta uma região polar chamada de cabeça hidrofílica, no qual possui uma maior afinidade com a água e uma cauda hidrofóbica que possui maior afinidade com óleos e gorduras. Essa estrutura permite que essas moléculas sejam consideradas anfifílicas, ou seja, possuem afinidade tanto com a fase aquosa quanto com a fase orgânica. Nesse sentido, ele se organiza na interface entre o óleo e a água facilitando a dispersão dessas partículas (Jahan *et al.*, 2020).

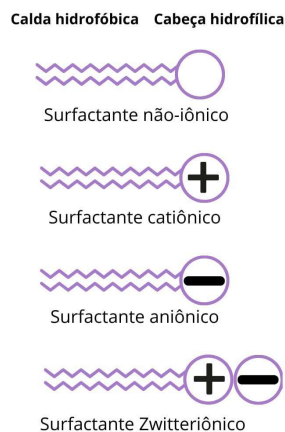
As emulsões podem ser classificadas em óleo em água (O/A) quando a fase dispersa é o óleo e a fase contínua é a água, como por exemplo a maionese ou o leite; e água em óleo (A/O) quando a fase dispersa é a água e a fase contínua é o óleo, como em cremes (Henao-Ardila; Quintanilla-Carvajal; Moreno, 2024). Os emulsificantes possuem um grau de afinidade por água ou óleo, que é dado pelo sistema HLB (Hidrofílico-lipofílico balanceado) que basicamente é uma razão entre os grupos polares da molécula sobre os grupamentos apolares. Emulsificantes com HLB baixo (3 a 6) são mais lipofílicas, ou seja, possuem maior afinidade com óleos e são indicadas para estabilizar emulsões A/O. Já moléculas com índice HLB alto (8 a 18) possuem maior afinidade com a fase aquosa e são indicadas para emulsões O/A (Zheng *et al.*, 2015).

Dentre a vasta aplicação dos emulsificantes, se destacam a indústria alimentícia e a indústria de cosméticos. Os emulsificantes contribuem para a fabricação de maionese, sorvetes, molhos, no caso da indústria de alimentos e constituem formulações de cremes, loções, protetores solares e shampoo na indústria de cosméticos (Xiao *et al.*, 2025; Calvo *et al.*, 2020). No geral essas moléculas auxiliam na estabilidade física e química desses produtos garantindo sua textura e estabilidade do produto final (Henao-Ardila; Quintanilla-Carvajal; Moreno *et al.*, 2024).

Os emulsificantes podem ser classificados como naturais (oriundos direto de uma fonte vegetal ou animal) ou podem ser sintetizados. Como exemplo de emulsificantes naturais tem-se proteínas como as caseínas, polissacarídeos como a goma arábica e pectina e lecitina, um fosfolípido de origem vegetal. Como exemplo de sintéticos tem-se o monoestearato de sorbitana, monooleato de sorbitano etoxilado (Tween 80), lauril éter sulfato de sódio, entre outros (Arancibia *et al.*, 2017; European Food Information Council, 2022).

Outra classificação comum é em relação à estrutura química dos emulsificantes, como ilustrado na Figura 1. Emulsificantes catiônicos apresentam carga elétrica positiva na região hidrofílica da molécula e são frequentemente utilizados para estabilizar emulsões em asfaltos, revestimentos e tintas. Os surfactantes aniônicos apresentam carga elétrica negativa na região hidrofílica da molécula, incluindo sais de ácido sulfônico. Os emulsificantes zwitteriônicos apresentam simultaneamente cargas positivas e negativas em sua molécula, como ocorre com as alquilbetaínas, utilizadas em shampoos infantis devido a sua baixa irritabilidade. E por fim existem os emulsificantes não iônicos, aqueles cuja molécula não apresenta carga elétrica. Muitos emulsificantes não-iônicos são utilizados em alimentos e cosméticos devido a sua baixa irritabilidade e toxicidade (Hsu *et al.*, 2025).

**Figura 1** - Estrutura de diferentes tipos de emulsificantes.



Fonte: Adaptado de Hsu *et al.* (2025).

Dentre os emulsificantes, se encontram alguns ésteres que podem ter aplicações industriais como biodiesel (Lamba; Sarkar; Kumar, 2018), bioplastificantes (Sabi *et al.*, 2025), fluido de perfuração (Razali *et al.*, 2020), Agente anti-câncer (Krimian *et al.*, 2023), lipídio

estruturado (Caicedo-Paz *et al.*, 2024), agente aromatizante (Jawale; Bhanage, 2023), e emulsificantes (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2024), como descritos nesse trabalho.

Os ésteres são compostos químicos que podem ser sintetizados por meio de algumas reações orgânicas, dentre elas está a esterificação. Esse tipo de rota consiste na reação entre um ácido carboxílico e um álcool para a formação do éster e de água. O controle na formação da água nessa reação é essencial para uma maior conversão em ésteres, pois com a remoção da água no produto final, o equilíbrio químico tende para a formação dos produtos (ésteres) (Monteiro *et al.*, 2023).

O mecanismo de reação de esterificação clássico consiste no uso de catalisadores químicos para protonar o oxigênio da carbonila, aumentando sua eletrofilicidade e tornando ele mais suscetível ao ataque nucleofílico. Em seguida, o álcool atua como nucleófilo atacando o carbono da carbonila, resultando, então, em um intermediário tetraédrico. Um próton é liberado do oxigênio oriundo do álcool e um próton se liga a um dos oxigênios da hidroxila oriunda do ácido carboxílico, etapa para a formação de um bom grupo abandonador (água). Após a eliminação da água, é restaurada a ligação C=O e o éster se torna protonado. Por fim, o éster protonado perde este próton para regenerar o catalisador e formar o produto final (Khan *et al.*, 2021).

A catálise clássica utiliza-se de catalisadores químicos como ácidos fortes a bases fortes (NaOH, KOH), logo oferece uma alta atividade catalítica e um bom rendimento para a transformação das matérias-primas renováveis em aditivos poliméricos. Entretanto, o uso desse tipo de catalisador gera resíduos tóxicos e de difícil tratamento aos efluentes, trabalham em condições elevadas de pressão e temperatura e ainda podem danificar os equipamentos (Sabi *et al.*, 2022).

Nesse sentido, a catálise enzimática (uso de enzimas como catalisadores) se torna uma alternativa mais viável pois oferece alta especificidade e seletividade, garantindo produtos de maior pureza com mínima formação de subprodutos indesejados e opera em condições brandas de temperatura e pressão, o que resulta em menor consumo de energia e maior segurança operacional (Roque *et al.*, 2022; Gómez-Rodríguez *et al.*, 2024; Mukherjee *et al.*, 2024). Dentre todas as enzimas, as lipases serão o foco deste trabalho.

### 3.2 LIPASES E IMOBILIZAÇÃO

As lipases, são as enzimas mais importantes nesse contexto, sendo a classe das hidrolases (EC 3) as mais utilizadas, mais especificamente as lipases do tipo (EC 3.1.1.3), que tem uma ampla especificidade do substrato e pode trabalhar com grandes concentrações de substrato (Rodrigues *et al.*, 2019).

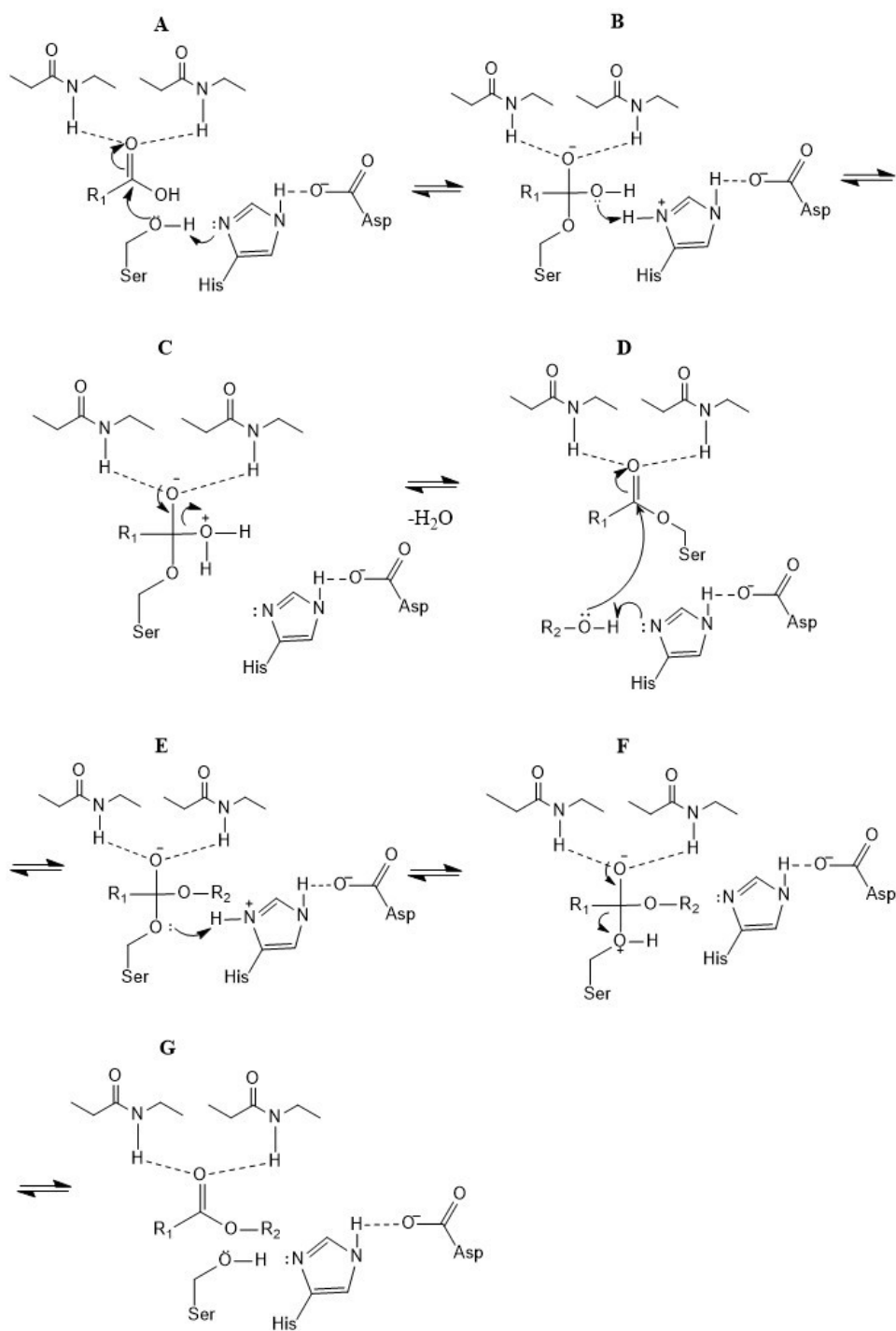
A atividade natural dessas enzimas é a hidrólise de triglicerídeos, para produção de glicerol e ácidos graxos livres (AGL), sendo utilizadas também para catalisar reações diferentes da sua atividade natural, como a esterificação e a transesterificação (Monteiro *et al.*, 2023; Rodrigues *et al.*, 2019).

A esterificação enzimática é uma alternativa a catálise química, no qual pode-se trabalhar em condições brandas de temperatura, com meios isentos de solventes orgânicos e com menos geração de resíduos tóxicos (Júnior *et al.*, 2022; Sabi *et al.*, 2022; Carlos *et al.*; 2024).

Essa reação é controlada termodinamicamente, e o excesso de um dos reagentes, sendo o álcool o mais utilizado, desloca o equilíbrio para a formação de produtos, aumentando o rendimento da reação. Outro ponto importante, é a remoção da água, que também interfere no deslocamento do equilíbrio melhorando o rendimento (Sousa *et al.*, 2025).

Na esterificação enzimática catalisada por lipases, o mecanismo (Figura 2) é conduzido pela tríade catalítica do sítio ativo da enzima, composto pelos aminoácidos Serina (Ser), Histidina (His) e Aspartato (Asp) ou Glutamato (Glu). Na primeira etapa do mecanismo, a Serina tem seu oxigênio atacando a carbonila do ácido carboxílico (Etapa A), este ataque leva a formação de um intermediário tetraédrico, que é estabilizado por interações de hidrogênio no Orifício Oxiânion da enzima, seguido pela transferência do próton da (Ser) para a (His), o grupo abandonador abstrai um próton da histidina, sendo liberado na forma de água (Etapa B). Em seguida, há a formação do complexo acil-lipase (Etapa C), onde o grupo acil está ligado covalentemente ao oxigênio da Serina. Depois, a histidina atua como uma base e abstrai um próton do álcool (Etapa D), transformando-o em um nucleófilo mais forte. Este nucleófilo, realiza um segundo ataque nucleofílico à carbonila do complexo (Etapa E), formando o segundo intermediário tetraédrico, que também é estabilizado no sítio ativo da enzima. Neste intermediário, o oxigênio da Serina abstrai um próton da Histidina, o que provoca a clivagem da ligação entre a Serina e o grupo acil (Etapa F), e conseqüentemente, o éster é liberado (Etapa G) e a lipase é regenerada em sua conformação inicial (Stergiou *et al.*, 2013).

**Figura 2** - Representação de mecanismo de esterificação enzimática catalisada por lipases.



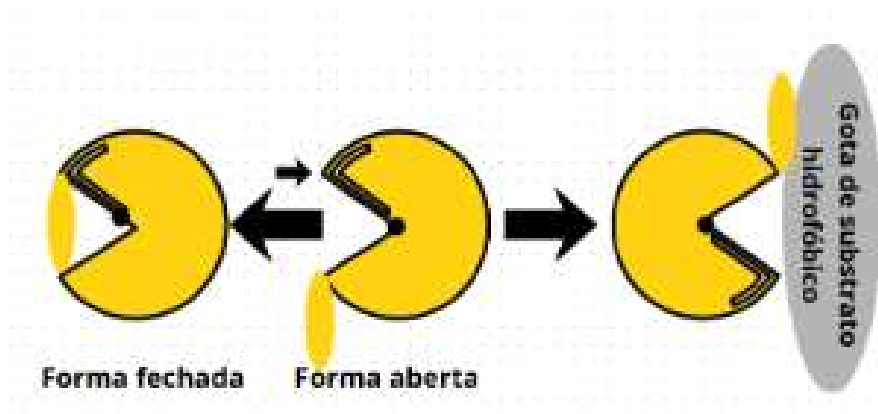
Fonte:

Adaptado de Stergiou (2013).

Segundo (Sousa *et al.*, 2025) a síntese de ésteres utilizando as lipases é um desafio atual, principalmente pela dificuldade de viabilidade econômica do processo, visto que essas enzimas têm um custo elevado. Além disso, existem desafios relacionados à estabilidade e atividade catalítica destas enzimas, que devem ser superados com projetos bem preparados.

Para superar esses desafios, as lipases precisam passar por protocolos de imobilização. As lipases têm um modo de ação atrativo, chamado ativação interfacial (Figura 3), nesse mecanismo, o sítio ativo delas é protegido por uma cadeia polipeptídica hidrofóbica, muito descrita na literatura como “tampa” ou “lid”, e em um ambiente aquoso essa estrutura se mantém na conformação “fechada”, isto é, na sua forma monomérica inativa, impedindo o acesso dos substratos. Quando gotículas lipídicas ou suportes sólidos, de natureza hidrofóbica, entram em contato, há um deslocamento para a conformação “aberta”, forma monomérica ativa (Rodrigues *et al* 2019; Adlercreutz, 2013).

**Figura 3** - Mecanismo de ativação interfacial de Lipases.



Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.*, (2019).

Com esse mecanismo, chamado de mecanismo de adsorção física hidrofóbica, onde as lipases ficam adsorvidas nos suportes hidrofóbicos, é possível imobilizá-las na sua conformação ativa, o que direta ou indiretamente, pode solucionar os desafios atuais mencionados no começo desta seção (seção 2.3) (Rodrigues *et al.*, 2019; Adlercreutz, 2013). As lipases imobilizadas apresentam melhorias em comparação a sua forma solúvel, é possível obter melhoras na estabilidade, atividade catalítica, especificidade e até mesmo na viabilidade do processo (Sousa *et al.*, 2025; Lima *et al.*, 2024; Rodrigues *et al.*, 2019).

Em relação aos suportes para imobilização, é interessante que os materiais sejam porosos para que a enzima fique adsorvida, materiais mesoporosos e macroporosos são amplamente utilizados na literatura (Juliano *et al.*, 2023). Diversos materiais podem ser utilizados com essas características, como por exemplo, partículas de polimetacrilato mesoporosas, polipropileno poroso, suportes acrílicos mesoporosos, entre outros (Rodrigues *et al.*, 2019).

O protocolo de imobilização por adsorção hidrofóbica é simples e eficiente, sua principal vantagem é permitir a purificação e imobilização em uma única etapa, pois as lipases se fixam no suporte, enquanto os contaminantes hidrofílicos são eliminados no processo de lavagem. A forma monomérica aberta adsorvida proporciona grande estabilidade contra variações de força iônica e agentes oxidantes, e o suporte auxilia a prevenir a inativação da enzima, causada pelo acúmulo de contaminantes hidrofílicos (como água e glicerina). Além disso, o método é reversível, o que significa que o suporte pode ser reutilizado (Rodrigues *et al.*, 2019).

Diversos trabalhos na literatura estudaram a síntese de ésteres utilizando derivados do ácido decanoico por meio da catálise enzimática como potenciais emulsificantes. Gómez-Rodríguez *et al.* (2024) investigaram a síntese do decanoato de galactomanana, um potencial emulsificante. A reação escolhida foi a transesterificação entre o decanoato de vinila e a galactomanana, conduzida em dimetilsulfóxido (DMSO) e catalisada pelo Novozym 435.

O estudo de Roque *et al.* (2025) explorou a síntese do decanoato de 2-(2-etoxietoxi) etila a partir do dietilenoglicol monoetiléter e ácido decanoico. A reação de esterificação foi conduzida em um sistema ausente de solventes, utilizando como catalisador a lipase de *Thermomyces lanuginosus* (LTL) modificada quimicamente com dodecanal. O produto obtido é de interesse para aplicação como emulsificante.

Kaewprapan *et al.* (2012) focaram na síntese do decanoato de dextrana, um produto com potencial aplicação como emulsificante. A reação empregada foi a transesterificação entre a dextrana e o decanoato de vinila, realizada em DMSO. O catalisador utilizado foi a lipase liofilizada de *Candida rugosa* (LCR).

Inprakhon *et al.* (2017) descreveram a produção do monocaprato de sacarose, também destinado a ser utilizado como emulsificante. A metodologia envolveu uma reação de transesterificação entre a sacarose e o decanoato de vinila, conduzida em DMSO. Assim como o estudo anterior, o catalisador empregado foi a Lipase liofilizada de *Candida rugosa* (LCR).

Jadhav, Gogate e Annapurna (2021) concentraram-se na obtenção do decanoato de poliglicerol, um composto relevante na indústria como emulsificante. A síntese foi realizada através da reação de esterificação entre o poliglicerol e o ácido decanoico em um sistema ausente de solventes. O catalisador enzimático Novozym 435 foi o biocatalisador escolhido para otimizar o processo.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 MATERIAIS

Lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0) foi adquirida da Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, EUA). Partículas de poli(estireno-divinilbenzeno) foram adquiridas da Supelco (St Louis, MO, EUA). Ácido decanoico e Tween 20 foram também adquiridos da Sigma- Aldrich. Óleo fúsel foi adquirido da Raízen Tarumã Ltda. (Tarumã, SP). A sua composição centesimal (%m.m<sup>-1</sup>) são descritos em um estudo recente realizado em nosso grupo: água (11,6 %), etanol (4,2%), propanol (3,9%), butanol (1,1%), álcool isobutílico (11,5%) e álcool isoamílico (67,7%) (Mattos *et al.*, 2023). Óleo de coco (Ducoco) e detergente lava louça (Ypê) foram adquiridos em mercado local. Todos os outros reagentes foram de grau analítico adquiridos da Synth<sup>®</sup>.

### 4.2 PROCEDIMENTO DE IMOBILIZAÇÃO DA LIPASE EVERSA TRANSFORM 2.0<sup>®</sup> POR ADSORÇÃO FÍSICA

A imobilização da lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 em partículas de PEDB consistiu na preparação de uma suspensão contendo solução da lipase previamente preparada em solução tampão fosfato de sódio pH 5 (5 mmol.L<sup>-1</sup>) na proporção suporte:solução enzimática de 1:19 (g.mL<sup>-1</sup>) empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg.g<sup>-1</sup> de suporte (Carvalho *et al.*, 2021; Guedes *et al.*, 2022). A suspensão foi mantida sob agitação (200 rpm) em um shaker orbital por 24h. Ao final, o biocatalisador heterogêneo preparado foi filtrado, lavado exhaustivamente com água bidestilada e estocado a 4°C por 8 h. A concentração de proteína imobilizada (PI) foi quantificada pelo método de Bradford.

### 4.3 PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DOS ÉSTERES

As reações de esterificação foram conduzidas em frascos de Duran de 100 mL abertos, contendo 6 g do meio reacional (ácido decanoico + óleo fúsel). O sistema foi mantido sob agitação mecânica contínua a 240 rpm e imerso em um banho termostatizado. Os frascos atingiram a temperatura desejada 15 minutos antes da adição do biocatalisador. Para monitorar a reação, amostras (50 µL) foram coletadas em intervalos definidos, diluídas em etanol hidratado a 95% (m.m<sup>-1</sup>) e o ácido residual foi quantificado por titulação. Utilizou-se solução de NaOH 40 mmol.L<sup>-1</sup> e fenolftaleína como indicador. A porcentagem de conversão foi calculada com base na razão entre a concentração molar de ácido consumido e a concentração inicial (Mattos *et al.*, 2023).

#### 4.4 OTIMIZAÇÃO DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO USANDO DCCR

Neste estudo, foi avaliada a interação e o efeito individual de três importantes variáveis na esterificação como razão molar AD:OF (1:1 a 1:4), temperatura de reação (25 °C a 55 °C) e concentração de lipase imobilizada (5 a 25% m.m<sup>-1</sup>). O delineamento proposto (modelo DCCR) consistiu de 17 ensaios, 8 pontos fatoriais, 6 pontos axiais e 3 pontos centrais na qual foram realizados de forma randômica. A variável dependente (resposta) foi a conversão do ácido (AD) em ésteres após 15 min de reação (fase linear da reação). Os dados experimentais obtidos foram analisados em um nível de confiança de 95% utilizando o software Protimiza Experimental Design (<https://experimental-design.protimiza.com.br/>).

Os efeitos das três variáveis e suas interações foram determinados por análise de variância (ANOVA). A adequação do modelo proposto foi avaliada pelo coeficiente de determinação (R<sup>2</sup>). Superfícies de contorno foram utilizadas para avaliar a relação entre parâmetros de entrada e resposta (porcentagem de conversão de AD) e determinar as condições ótimas de reação. A validade deste modelo foi determinada pela produção dos ésteres nas condições ótimas.

#### 4.5 EFEITO DO TEMPO NA PRODUÇÃO DOS ÉSTERES

O efeito do tempo de reação na produção de ésteres de óleo fúsel com ácido decanoico foi estudado sob as condições experimentais ótimas obtidas a partir da análise de superfície de resposta e gráficos de contorno do planejamento experimental: 35,5 °C, razão molar AD:OF de 1:3 e concentração de biocatalisador imobilizado de 25% em massa (ou concentração de proteína imobilizada de 7,75 mg por grama de mistura de reação), para determinação do tempo mínimo necessário para a reação atingir o equilíbrio. Em condições de agitação previamente estabelecidas (Sabi *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2021; Guedes *et al.*, 2022; Mattos *et al.*, 2023). Além disso, o conjunto de experimentos, também foi conduzida uma reação de esterificação utilizando extrato de ET2.0 não imobilizado, utilizando a mesma carga proteica inicial (1,41 mL de extrato líquido de ET 2.0, que corresponde a 7,75 mg de proteína por grama de mistura de reação).

#### 4.6 ANÁLISE TÉRMICA

A análise de Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE) dos ésteres foi realizada em um analisador térmico DTC Q20 V24.11. Uma quantidade de 9,5mg de amostra do éster de decanoico foi pesada e colocada em um cadinho de alumínio com gás nitrogênio 50ml/min a uma taxa de aquecimento de 10 °C min<sup>-1</sup> de -50 a 100 °C sob atmosfera de nitrogênio a uma vazão de 50 mL.min<sup>-1</sup>.

#### 4.7 CARACTERIZAÇÃO DOS ÉSTERES PRODUZIDOS POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (EITF)

Os espectros de infravermelho das matérias-primas (ácido decanoico e óleo fúsel) e dos produtos (ésteres de óleo fúsel) foram realizados no espectrômetro Shimadzu IRAffinity-1 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japão). Esse espectro foi adquirido em 32 scans entre 4000 e 600  $\text{cm}^{-1}$  com resolução espectral de 4  $\text{cm}^{-1}$ .

#### 4.8 PROPRIEDADES EMULSIFICANTES DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL SINTETIZADOS

Os ésteres obtidos nas condições ótimas foram separados do meio em funil de separação, lavados com água destilada e desidratados com  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, conforme estudo anterior realizado em nosso grupo (Mattos *et al.*, 2023). A capacidade emulsificante dos ésteres obtidos foi avaliada pela adição de 2 mL de óleo de coco e 3,5 mL de uma solução emulsificante preparada na proporção volumétrica de 3 partes de ésteres e 4 partes de água destilada em tubos de ensaio de vidro fechados com dimensões de 15 × 125 mm. Os tubos foram agitados por 1 minuto a 700 rpm em um vórtex homogeneizador e armazenados em estufa de secagem a 50 °C por 48h mantidos em condições estáticas. O desempenho emulsificante dos ésteres foi comparado com detergente lava louça e Tween 20. O teste controle na ausência de emulsificantes foi também conduzido (substituição do emulsificante por água destilada). O índice de emulsificação (IE) foi determinado pela relação entre a altura da emulsão com a altura total dos materiais nos tubos de ensaio, conforme descrito em um estudo anterior (Neta *et al.*, 2012).

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1 IMOBILIZAÇÃO DA LIPASE EVERSA TRANSFORM 2.0<sup>®</sup> POR ADSORÇÃO FÍSICA

Neste estudo, a lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 foi imobilizada por ativação interfacial nos poros do suporte orgânico por interações hidrofóbicas. Para isso, utilizaram-se condições experimentais fixas de tampão acetato de 5 mmol.L<sup>-1</sup> em pH 5, a 25°C, com um carregamento inicial de proteína de 40 mg.g<sup>-1</sup> de suporte. A concentração máxima de proteína imobilizada foi de 31 ± 2,4 mg.g<sup>-1</sup> com um rendimento de imobilização de 77,5%. Esse valor pode ser justificado pela presença de estabilizantes empregados nas formulações enzimáticas que interagem com os poros do suporte, impossibilitando o acesso da enzima (Carlos *et al.*, 2024).

Esses resultados mostram uma alta afinidade dessa enzima com o suporte hidrofóbico, no qual a região hidrofóbica localizada próxima do sítio ativo da enzima interage preferencialmente com os sítios hidrofóbicos localizados na região interna do PEDB. Levando em consideração que o processo de adsorção física é puramente um processo de transferência de massa, a grande dimensão dos poros desse suporte permite uma grande área de contato para que a enzima possa ser adsorvida nas regiões internas do suporte quatro vezes maior que o diâmetro molecular da lipase (53,2 Å) (Alves *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2021).

### 5.2 OTIMIZAÇÃO DA PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL

Para a otimização da produção de ésteres de óleo fúsel, avaliou-se o efeito de três parâmetros que afetam diretamente o rendimento da reação: a temperatura, a proporção de biocatalisador imobilizado e a razão molar entre os reagentes, utilizando um delineamento experimental composto rotacional (DCCR) (Tabela 1). Os resultados dos ensaios estão apresentados na Tabela 2, na qual mostra que a porcentagem dos valores de conversão de ácido graxo variou de 6,20% (Ensaio 13) a 39,70% (Ensaio 14). Isso mostra que a utilização do delineamento proposto possibilitou aumentar a conversão em 6 vezes. Conforme mostrado na Figura 4, os valores preditos pelo modelo proposto (valores teóricos) foram bastante similares aos valores experimentais. Estes resultados mostram claramente que o modelo proposto é bastante adequado para explicar o efeito de relevantes parâmetros na formação dos ésteres. O coeficiente de correlação do modelo ( $r^2$ ), foi de 97,65%.

**Tabela 1** - Parâmetros utilizados para o planejamento experimental

Fatores	Unidade	-1,68	-1	0	1	+1,68
Razão molar	-	1:1	1:1,6	1:2,5	1:3,4	1:4
Temperatura	°C	25	31	40	49	55
Biocatalisador	%m.m <sup>-1</sup>	5	9	15	21	25

Fonte: Do autor (2024).

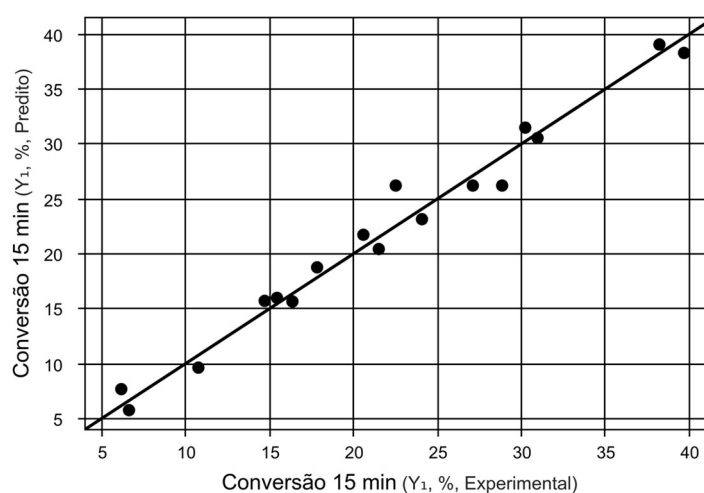
**Tabela 2**- Relação entre as variáveis independentes e os valores de conversão experimentais obtidos em 15 minutos de reação.

Ensaio	Variáveis independentes			Experimental
	Razão molar AD:OF	Temperatura °C	Biocatalisad or imobilizado % m.m <sup>-1</sup>	Conversão (%)
1	-1 (1:1,6)	-1 (31)	-1 (9)	10,80
2	+1 (1:3,4)	-1 (31)	-1 (9)	6,60
3	-1 (1:1,6)	+1 (49)	-1 (9)	16,40
4	+1 (1:3,4)	+1 (49)	-1 (9)	15,40
5	-1 (1:1,6)	-1 (31)	+1 (21)	31,00
6	+1 (1:3,4)	-1 (31)	+1 (21)	38,20
7	-1 (1:1,6)	+1 (49)	+1 (21)	17,80
8	+1 (1:3,4)	+1 (49)	+1 (21)	30,20
9	-1,68 (1:1)	0 (40)	0 (15)	14,70
10	+1,68 (1:4)	0 (40)	0 (15)	24,10
11	0 (1:2,5)	-1,68 (25)	0 (15)	20,60
12	0 (1:2,5)	+1,68 (55)	0 (15)	21,50
13	0 (1:2,5)	0 (40)	-1,68 (5)	6,20
14	0 (1:2,5)	0 (40)	+1,68 (25)	39,70
15	0 (1:2,5)	0 (40)	0 (15)	27,10
16	0 (1:2,5)	0 (40)	0 (15)	28,90

17	0 (1:2,5)	0 (40)	0 (15)	25,50
----	-----------	--------	--------	-------

Fonte: Do autor (2024).

**Figura 4** - Relação entre porcentagem de conversão predita e experimental em 15 minutos do ácido decanóico.



Fonte: Do autor (2024).

A relação desses parâmetros com os valores de conversão foi realizada pelo teste *t* e estão expressos na Tabela 3, na qual apresenta os termos considerados significativos para o modelo (valores de  $p < 0,05$ ) como a média dos valores de conversão, termo quadrático da razão molar ( $M^2$ ), termo quadrático da temperatura ( $T^2$ ), termo linear da concentração de biocatalisador imobilizado (B), e razão molar (M) e das interações entre razão molar e biocatalisador imobilizado (M.B) e temperatura/biocatalisador imobilizado (T.B). Por outro lado, os termos lineares de razão molar (M) e temperatura (T), e os termos quadrático da concentração de biocatalisador quadrática e interação (M.T) foram excluídos do modelo pois apresentaram valores de  $p > 0,05$ , termos não significativos ao nível de confiança de 95%.

**Tabela 3** - Coeficientes de regressão, erro padrão e valor p para o modelo proposto.

Fatores	Coefficiente de regressão	Erro padrão	valor p
Média	26,17	1,32	0,0000
Razão molar quadrática	-2,40	0,68	0,0098
Temperatura quadrática	-1,82	0,68	0,0325
Biocatalisador linear	9,10	0,62	0,0000
Razão molar linear	2,21	0,62	0,0000
Razão molar x biocatalisador	3,10	0,81	0,0065
Temperatura x Biocatalisador	-4,45	0,81	0,0009

Fonte: Do autor (2024).

A partir dos valores do coeficiente de regressão para os termos significativos para o modelo, foi possível obter uma equação quadrática que explica a relação dessas variáveis com a porcentagem de conversão do ácido graxo em ésteres, como pode ser visto na equação abaixo:

$$Y(\%) = 26,17 + 2,21.M - 2,40.M^2 - 1,82.T^2 + 9,10.B + 3,10.M.B - 4,45T.B$$

Em que: Y (%) representa a porcentagem de conversão, M representa a razão molar, T a temperatura e B a concentração de biocatalisador imobilizado.

**Tabela 4** - Análise de variância para o modelo proposto na síntese enzimática de ésteres.

ANOVA; $R^2 = 97,65$				
Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	teste F	F tabelado
Regressão	1525,4730	9	41	3,20
Resíduos	36,7659	7		
Falta de ajuste	14,9792	5	0,28	
Erro puro	21,7867	2		

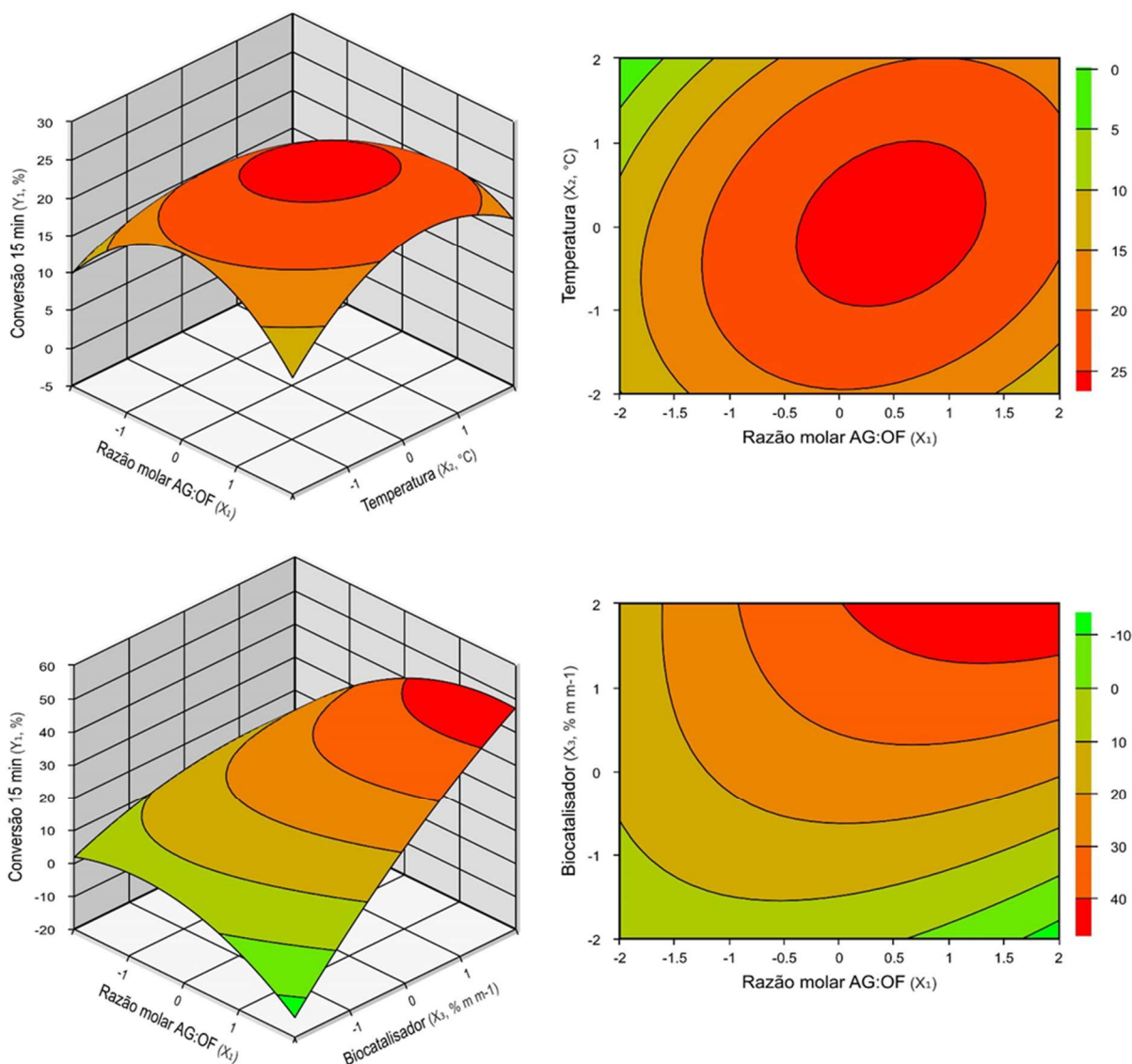
ANOVA; $R^2 = 97,65$				
Fonte de variação	Soma dos quadrados	Graus de liberdade	teste F	F tabelado
Total	1562,2388	16		

Fonte: Do autor (2024).

Além disso, a análise de variância (ANOVA) (Tabela 4), junto com o teste de Fisher, ajudam a validar o modelo proposto, mostrando uma relação entre as variáveis significativas e a resposta, e o valor de F calculado (41,00) foi superior a 12 vezes que o valor de F tabelado no teste de Fisher em 5% de significância (3,20). O erro puro apresentado se mostrou pequeno, sinalizando uma boa reprodutibilidade dos dados.

Devido à elevada adequação do modelo proposto aos dados experimentais obtidos, pôde-se criar superfícies de resposta (tridimensional) e de contorno (bidimensional) que correlaciona as variáveis avaliadas neste estudo e seus efeitos na formação dos ésteres com o intuito de encontrar um ponto ótimo para a reação enzimática, como pode ser observada nas Figuras 5A, 3B.

**Figura 5** - Superfície de resposta de conversão para produção enzimática de ésteres derivados do ácido decanoico. (A) Superfície de resposta e curva de contorno: Razão molar AG:OF x temperatura; (B) Superfície de resposta e curva de contorno: Razão molar AG:OF x biocatalisador imobilizado.



Fonte: Do autor (2024).

A razão molar entre as substâncias reacionais influencia no rendimento da reação, pois um aumento da proporção das substâncias reacionais desloca o equilíbrio químico de uma reação de esterificação para a formação dos produtos, logo, uma reação que contenha um excesso de ácido decanoico ou de óleo fúsel consegue aumentar o rendimento da formação dos ésteres desejados. Entretanto, uma razão molar muito exagerada não favorece a formação dos ésteres por produzir efeitos nocivos ao biocatalisador imobilizado (Alves *et al.*, 2016; Bv *et al.*, 2019; Sousa *et al.*, 2021). A temperatura influencia na síntese dos ésteres pelo fato de que o aumento de temperatura favorece a solubilidade das substâncias reacionais e redução da viscosidade, facilitando a transferência de

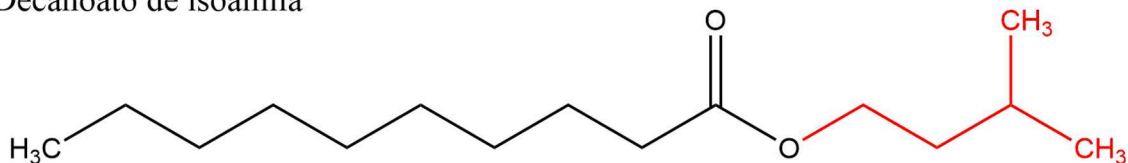
massa no sistema reacional, entretanto, uma temperatura muito elevada pode causar a desnaturação das enzimas, diminuindo a sua atividade catalítica (Yudhana *et al.*, 2023; Todero *et al.*, 2015). Por fim, a concentração do biocatalisador imobilizado também influencia na reação, pois um aumento dessa concentração favorece o aumento de sítios catalíticos disponíveis para a reação (Lage *et al.*, 2016; Guedes Junior *et al.*, 2022; Manan *et al.*, 2018). De acordo com a equação apresentada acima, o termo linear de concentração de biocatalisador (+9,10B) foi o termo que apresentou a maior influência (positiva) na formação dos ésteres, confirmando a sua forte influência na reação de esterificação.

O efeito da razão molar AD:OF e da temperatura de reação e sua interação mútua na reação é ilustrado na Figura 5(A). A máxima de conversão do ácido pode ser obtida para reações realizadas com excesso de OF para valores de razão molar AD:OF entre 1:2,5 e 1:3,4. Por outro lado, um aumento adicional da quantidade de OF (razão molar AD:OF de 1:4) resultou em uma ligeira redução da conversão devido à diluição do ácido no meio reacional e/ou remoção da camada de hidratação essencial da enzima pelo excesso de OF, que pode afetar negativamente sua atividade catalítica (Carvalho *et al.*, 2021). Um aumento adequado na temperatura resulta na redução da viscosidade no meio de reação que favorece a transferência de massa de reagentes para o microambiente da lipase (Mattos *et al.*, 2023). De acordo com a Figura 5(A), a máxima formação de ésteres pode ser obtida na faixa de temperatura entre 31 °C e 49 °C.

De acordo com a Figura 5(B), a máxima conversão em ésteres foi alcançada para concentrações de biocatalisador acima de 25% m.m<sup>-1</sup>, como descrito anteriormente para os resultados sumarizados na Tabela 1. Portanto, a análise das superfícies de contorno revela que a máxima produção dos ésteres (baseada em termos de conversão do ácido) pode ser obtida para valores de razão molar AD:OF de 1:3, 35,5 °C e 25% m.m<sup>-1</sup> de biocatalisador. Portanto, a validade do modelo foi conduzida por comparação entre os valores experimental e predito de conversão após 15 min de reação. Nestas condições ótimas, a conversão experimental e predita obtidas foram 44,7% e 47,8%, na qual revelam a validade do modelo proposto. A Figura 6 apresenta o produto majoritário na reação de esterificação entre o ácido decanoico e óleo fúsel. Existem outros produtos formados devido ao fato do óleo fúsel ser uma mistura de álcoois superiores, entretanto em sua composição, ele apresenta majoritariamente o álcool isoamílico.

**Figura 6** - Produto majoritário referente a reação de esterificação entre o ácido decanoico e óleo fúsel.

Decanoato de isoamila



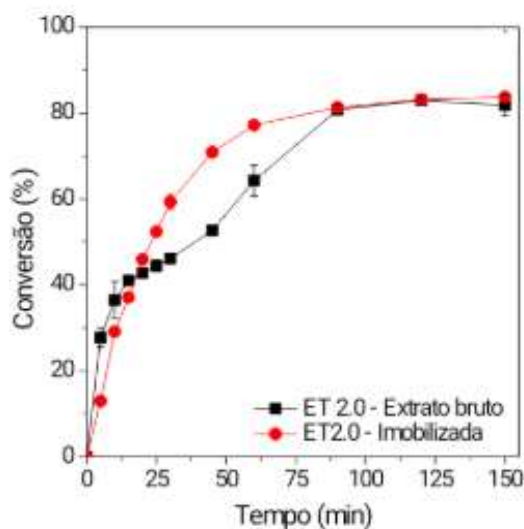
Fonte: Do autor (2024).

### 5.3 EFEITO DO TEMPO PARA PRODUÇÃO DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL

Para a produção enzimática de ésteres de óleo fúsel, utilizaram-se os valores ótimos obtidos no delineamento experimental: razão molar ácido orgânico:óleo fúsel 1:3, temperatura 35,5 °C e concentração de biocatalisador imobilizado 25% m.m, comparando esses resultados com a produção enzimática desses ésteres utilizando a enzima na sua forma livre, como pode ser observado nas Figura 7.

Nos primeiros 30 minutos de reação, foi observado um perfil linear de formação da mistura de ésteres que evidencia satisfatória acessibilidade dos materiais de partida nos poros do microambiente da lipase imobilizada. Esses resultados mostram uma boa transferência de massa externa (agitação mecânica) e interna (difusão dos materiais de partida aos poros suporte) (Carlos *et al.*, 2024).

**Figura 7** - Efeito do tempo na produção enzimática dos ésteres de óleo fúsel utilizando lipase imobilizada e livre.



Fonte: Do autor (2024).

Os resultados na Figura 7 mostram, ainda, uma satisfatória conversão dos ácidos orgânicos, chegando a uma conversão de aproximadamente 85%, até mesmo utilizando a enzima livre. No geral, enzimas na sua forma livre tendem a se agregar em meios aquosos, diminuindo a transferência de massa dos materiais de partida aos seus sítios ativos, reduzindo sua atividade catalítica (Fernandez-Lafuente, 2010; Junior *et al.*, 2022). Entretanto, neste sistema reacional a lipase em sua forma livre obteve praticamente a mesma conversão que sua forma imobilizada devido à possível natureza anfifílica dos ésteres resultantes (propriedades emulsificantes não iônicas). Nessas condições, a estrutura tridimensional da lipase mudou de conformação fechada (inativa) para aberta (ativa), expondo assim seu sítio ativo às matérias-primas. Importante mencionar que mesmo que obteve essa conversão, a lipase em sua forma livre impossibilita a sua reutilização em posteriores bateladas.

#### 5.4 ANÁLISE TÉRMICA DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL

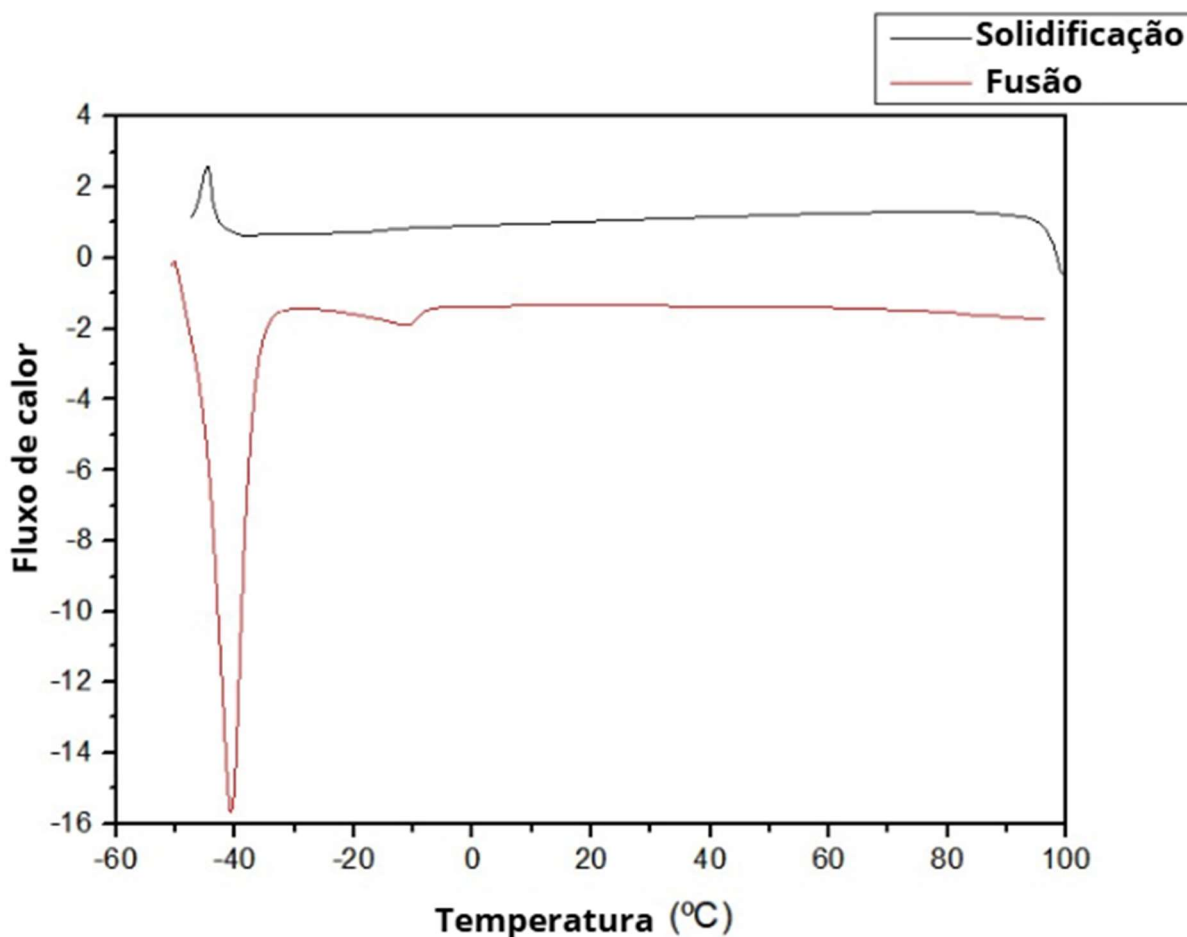
Foi realizada a técnica de Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE) para determinação dos eventos térmicos dos ésteres sintetizados. Com base em estudos do grupo (Matheus, 2025), em que realizou análise termogravimétrica dos ésteres de óleo fúsel, o autor chegou como resultado que este éster é estável termicamente até 120°C. Por esse motivo, a temperatura escolhida para a realização do CDE foi de -50°C a 100°.

A figura 8 mostra os resultados obtidos, tendo uma curva de resfriamento (linha tracejada vermelha) e uma curva de aquecimento (linha tracejada preta). A curva de resfriamento tem um pico

máximo em aproximadamente  $-40^{\circ}\text{C}$ , que corresponde a solidificação do éster. A amplitude e a forma do pico confirmam que a amostra não é um composto puro, a natureza do óleo fúsel como uma mistura de álcoois superiores resultou na formação de uma mistura de decanoatos, alargando a faixa de temperatura de solidificação.

Na curva de aquecimento, o pico principal foi localizado próximo de  $-30^{\circ}\text{C}$ . Este valor abaixo do ponto de fusão do decanoico livre ( $31,38^{\circ}\text{C}$ ) (Liu, Pent *et al.*, 2019), confirma o sucesso da esterificação, com um ponto de fusão reduzido. A transição de fusão também se apresenta como um evento mais alargado, começando em  $-40^{\circ}\text{C}$  e se estendendo até  $-10^{\circ}\text{C}$ . Desta forma, obteve-se um abaixamento do ponto de fusão e um alargamento da faixa de fusão.

**Figura 8** - Gráfico de Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE).

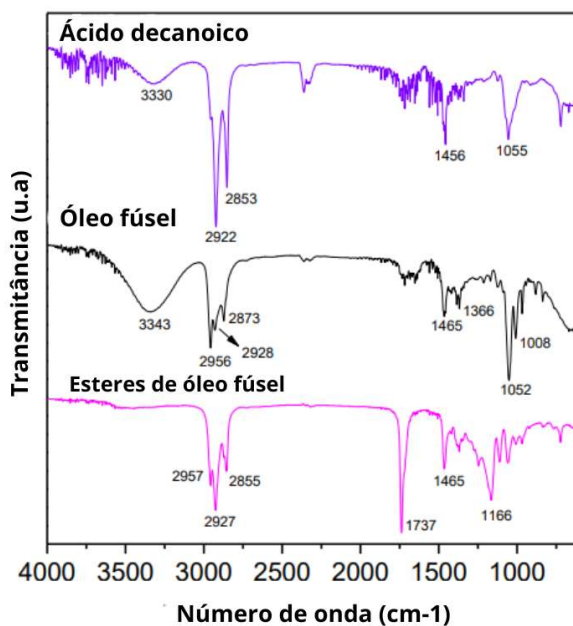


Fonte: Do autor (2025).

## 5.5 CARACTERIZAÇÃO DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO POR TRANSFORMADA DE FOURIER (EITF)

O espectro de EITF do ácido decanoico, óleo fúsel e ésteres de óleo fúsel (Figura 9) apresentam bandas intensa em  $2853\text{ cm}^{-1}$  e  $2922\text{ cm}^{-1}$ , bandas características de vibração de estiramento de grupos metila ( $\text{CH}_3$ ) e metileno ( $-\text{CH}_2-$ ). Além disso, essas moléculas apresentam bandas entre  $1456$  e  $1465\text{ cm}^{-1}$ , referentes à vibração de estiramento da ligação simples carbono-oxigênio (C-O) (Roque *et al.*, 2025).

**Figura 9** - Caracterização dos ésteres de óleo fúsel por (EITF).



Fonte: Do autor (2025).

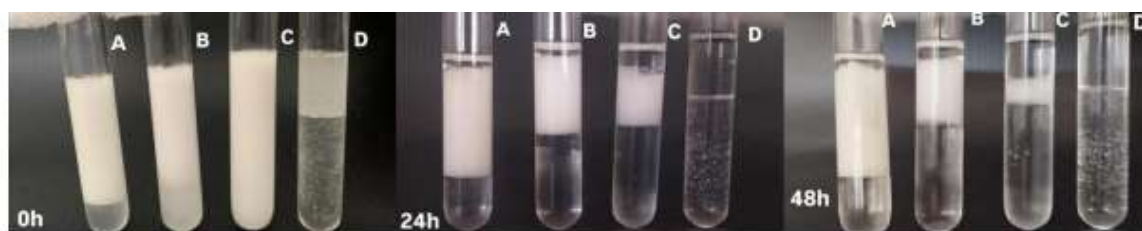
O espectro do óleo fúsel e o ácido decanoico apresentam bandas em  $3343\text{ cm}^{-1}$  atribuídas à deformação axial de ligações O-H e o óleo fúsel apresenta uma banda em  $1052\text{ cm}^{-1}$  característica de vibração de estiramento C-O em álcoois primários. A confirmação da formação dos ésteres aparecem na banda em  $1167\text{ cm}^{-1}$  referente à vibração de estiramento do grupo éster ( $-\text{C}(=\text{O})\text{O}-$ ) (Gómez-Rodríguez *et al.*, 2024) Por fim, a banda de grupos hidroxilas presente em ambas as matérias-primas não apareceram no espectro do produto, logo houve uma boa separação e purificação dos ésteres.

## 5.6 AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES EMULSIFICANTES DOS ÉSTERES DE ÓLEO FÚSEL SINTETIZADOS

As potencialidades promissoras dos ésteres de óleo fúsel como agentes emulsificantes também foram demonstradas em estudos anteriores (Roque *et al.*, 2024; Kaewprapan *et al.*, 2012; Inprakhon *et al.*, 2017; Gómez-Rodríguez *et al.*, 2024; Jadhav; Gogate; Annapurna, 2021).

Portanto, a potencial aplicação dos ésteres sintetizados a partir do ácido decanoico como agentes emulsificantes foi investigada para o sistema de emulsão simulada compostos por óleo de coco e água. É possível notar que após 48 h a 50°C, o sistema emulsificado com os ésteres obtidos no presente estudo apresentou a maior interação entre as fases orgânica (óleo) e aquosa, expressa em termos de índice de emulsificação (IE): amostra (A) na Figura 9. Neste sistema, o valor de IE foi de 62%, enquanto que para o Tween 20 (amostra B) foi de 31% e para o detergente comercial lava louça foi apenas 11% (amostra C).

**Figura 10** - Comparação da atividade emulsificante de A - ésteres de óleo fúsel; B - Tween 20; C - Detergente neutro; D - Branco.



Fonte: Do autor (2024).

Estes resultados mostram claramente a promissora aplicação destes ésteres como emulsificantes em formulações óleo/água. O éster sintetizado é capaz de interagir com a fase orgânica e aquosa por conta de sua característica anfílica por meio de interações intermoleculares do tipo interações hidrofóbicas do tipo Van der Waals, dipolo-dipolo e também ligações de hidrogênio.

## 6 CONCLUSÃO

A lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0) foi empregada em sua forma imobilizada em partículas hidrofóbicas de poli(estireno-divinilbenzeno) (PEDB), através do método de adsorção física por ativação interfacial. Este protocolo de imobilização se mostrou altamente eficiente, resultando em uma carga proteica de  $31 \pm 2,4 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  e indicando uma alta afinidade da enzima pelo suporte. A imobilização é fundamental, pois promove a hiperativação da lipase em sua conformação aberta, garantindo maior estabilidade e possibilitando o reuso do biocatalisador, o que é essencial para a viabilidade econômica do processo em escala industrial.

O sucesso da síntese dos ésteres em um sistema isento de solventes orgânicos foi garantido pela otimização do processo através do Delineamento Experimental Composto Rotacional (DCCR). Esta análise estatística permitiu identificar as condições reacionais ideais para a máxima conversão do ácido decanoico, estabelecidas em uma razão molar ácido decanoico:óleo fúsel de 1:3, temperatura de  $35,5 \text{ }^\circ\text{C}$  e concentração de biocatalisador de  $25\% \text{ m} \cdot \text{m}^{-1}$ .

O estudo do efeito do tempo nas condições reacionais ótimas revelou um desempenho catalítico notavelmente superior da enzima imobilizada. Foi atingida uma conversão máxima de ácido decanoico, da ordem de 85%, em um tempo reacional de apenas 90 minutos. Nos primeiros 30 minutos, o perfil linear de formação dos ésteres indicou uma satisfatória transferência de massa dos reagentes no microambiente da lipase imobilizada. Em comparação, a lipase em sua forma livre apresentou uma conversão significativamente mais baixa (60% após 90 minutos), sublinhando o impacto positivo da imobilização na atividade e eficiência da lipase.

Os ésteres de óleo fúsel demonstraram ser emulsificantes eficazes em emulsões óleo-água com índices de emulsificação superiores aos emulsificantes comerciais Tween 20 e detergente neutro. Especificamente, os ésteres alcançaram um índice de emulsificação (IE) de 62% após 48 horas a  $50 \text{ }^\circ\text{C}$ , um valor significativamente maior do que o obtido com Tween 20 (31%) e o detergente comercial (11%). A formação desses ésteres foi confirmada pela Espectroscopia no Infravermelho por Transformada de Fourier (EITF), que revelou a banda característica do grupo éster em  $1167 \text{ cm}^{-1}$ , e pela Calorimetria Diferencial Exploratória (CDE), que comprovou o abaixamento do ponto de fusão, também indicando a presença do grupo éster.

Por fim, encorajamos estudos adicionais para explorar a potencial aplicação dos ésteres de óleo fúsel sintetizados como ingredientes para diversas formulações alimentícias e cosméticas. Estes estudos adicionais não apenas expandirão o uso de matérias-primas renováveis, mas também

contribuirão para a expansão das potencialidades da lipase Eversa® Transform 2.0 em processos oleoquímicos, em especial quando aplicada em sua forma imobilizada.

## REFERÊNCIAS

- ADLERCRETZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media. **Chem. Soc. Rev.**, [S. l.], v. 42, n. 15, p. 6406, Feb. 2013.
- ALVES, M. D. *et al.* Isotherm, kinetic, mechanism and thermodynamic studies of adsorption of a microbial lipase on a mesoporous and hydrophobic resin. **Chemical Engineering Journal**, [S. l.], v. 311, p. 1-12, Nov. 2017.
- ARANCIBIA, C. *et al.* Comparing the effectiveness of natural and synthetic emulsifiers on oxidative and physical stability of avocado oil-based nanoemulsions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, [S. l.], v. 44, p. 159-166, Dec. 2017.
- BOLINA, I. C. A.; GOMES, R. A. B.; MENDES, A. A. Biolubricant production from several oleaginous feedstocks using lipases as catalysts: Current scenario and future perspectives. **BioEnergy Res.**, [S. l.], v. 14, p. 1039–1057, Dec. 2021.
- RADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Anal Biochem**, [S. l.], n. 1-2, v. 72, p. 248–254, 1976.
- BOLIVAR, J. M.; WOODLEY, J. M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Is enzyme immobilization a mature discipline? Some critical considerations to capitalize on the benefits of immobilization. **Chemical Society Reviews**, [S. l.], v. 51, p. 6251-6290, 2022.
- BOUDRANT, J.; WOODLEY, J. M.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Parameters necessary to define an immobilized enzyme preparation. **Process Biochem**, [S. l.], v. 90, p. 66–80, Nov. 2020.
- BV, A. *et al.* Alternative Technology of Enzymatic Production of Eugenyl and Linalyl Acetate Esters. **Journal of bioprocessing & biotechniques**, [S. l.], v. 9, p. 1-5, Oct. 2019.
- CAICEDO-PAZ, A. V. *et al.* Enzymatic synthesis of structured lipids from sachá inchi (*Plukenetia volubilis*) oil with capric acid via acidolysis reaction in stirred tank and packed bed mini reactors. **Food Biosci.**, [S. l.], v. 58, p. 103769, Apr. 2024.
- CALVO, F. *et al.* Integrated design of emulsified cosmetic products: A review. **Chemical Engineering Research and Design**, [S. l.], v. 161, p. 279-303, Sep. 2020.
- CARLOS, F. R.; MATHEUS, L. B.; Da Silva, R. P.; PEREIRA, M. A.; MENDES, A. A. Imobilização de lipase em partículas de poli(metacrilato) - estudo cinético de adsorção e avaliação de sua atividade catalítica em reações de hidrólise e esterificação. *In*: OLIVEIRA, A. M. (org). **Gestão da Inovação**. São Paulo: Poisson, 2024. v. 13, cap. 5, p. 46-57.
- CARVALHO, W. C. A. *et al.* Eco-friendly production of trimethylolpropane triesters from refined and used soybean cooking oils using an immobilized low-cost lipase (Eversa® Transform 2.0) as heterogeneous catalyst. **Biomass Bioenergy**, [S. l.], v. 155, p. 106302, Dec. 2021.
- EUROPEAN FOOD INFORMATION. **What are emulsifiers and what are common examples used in food?**, [s. l.: s. n.], 2024. Disponível em: <https://www.eufic.org/en/whats-in-food/article/what-are-emulsifiers-and-what-are-common-examples-used-in-food>. Acesso em: 20 out. 2024.

FERNANDEZ-LAFUENTE, R. Lipase from *Thermomyces lanuginosus*: Uses and Prospects as an Industrial Biocatalyst. **J. Mol. Catal. B Enzym.**, [S. l.], v. 62, n. 3-4, p. 197–212, Mar. 2010.

GAO, S. *et al.* Synthesis and performance study of cationic surfactants containing different quantities of hydroxyl. **RSC Advances**, [S. l.], v. 15, n. 10, p. 7318-7331, Mar. 2025.

GUEDES JUNIOR, J. G. E. Design of a sustainable process for enzymatic production of ethylene glycol diesters via hydroesterification of used soybean cooking oil. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 107062, Feb. 2022.

GUIMARÃES, J. R.; FERNANDEZ-LAURENTE, R.; TARDIOLI, P. W. Ethanolysis of soybean oil catalyzed by magnetic CLEA of porcine pancreas lipase to produce ecodiesel. Efficient separation of ethyl esters and monoglycerides. **Renewable Energy**, [S. l.], v. 198, p. 455-462, Oct. 2022

GÓMEZ-RODRIGUEZ, G. H. *et al.* Enzyme-catalyzed transesterification of galactomannan extracted from mesquite seed (*Prosopis velutina*) with vinyl carboxylate esters. **Heliyon**, [S. l.], v. 10, p. e31421, May. 2024.

HENAO-ARDILA, A. Emulsification and stabilisation technologies used for the inclusion of lipophilic functional ingredients in food systems. **Heliyon**, [S. l.], v. 10, p. e32150, Jun. 2024.

HSU, C. Y. *et al.* Biosurfactants: Properties, applications and emerging trends. **South African Journal of Chemical Engineering**, [S. l.], v. 53, p. 21-39, July 2025.

INPRAKHON, P. *et al.* Lipase-catalyzed synthesis of sucrose monoester: Increased productivity by combining enzyme pretreatment and non-aqueous biphasic medium. **Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 259, p.182-190, Oct. 2017.

JADHAV, H.; GOGATE, P.; ANNAPURE, U. Intensification of synthesis of triglyceride of Decanoic acid in the presence of amberlyst 15 as catalyst based on the use of ultrasound and microwave irradiations. **Chemical Eng. Process**. [S. l.], v. 165, p. 108424, Aug. 2021.

JAHAN, R. *et al.* Biosurfactants, natural alternatives to synthetic surfactants: Physicochemical properties and applications. **Advances in Colloid and Interface Science**, [S. l.], v. 275, p. 102061, Jan. 2020.

JAWALE, P. V.; BHANAGE, B. M. Synthesis of decanoate compounds in deep eutectic solvent using lipase: Optimization using response surface methodology, kinetic and docking study. **Journal of the Indian Chemical Society**, [S. l.], v. 100, p. 100950, Mar. 2023.

JULIANO, M. *et al.* Wax esters from waste fish oil catalyzed by immobilized *Candida rugosa* lipase. **Process Biochemistry**, [s. l.], v. 130, p. 386-400, jul. 2023.

JÚNIOR, J. M. *et al.* Improved Catalytic Performance of Lipase Eversa® Transform 2.0 via Immobilization for the Sustainable Production of Flavor Esters—Adsorption Process and Environmental Assessment Studies. **Catalysts**, [S. l.], v. 12, p. 1412, Nov. 2022.

KAEWPRAPAN, K. *et al.* Macromolecular surfactants synthesized by lipase-catalyzed transesterification of dextran with vinyl decanoate. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 88, p. 313-320, Mar. 2012.

KARIMIAN, E. *et al.* The enzymatic synthesis of lactose caprate using *Candida rugosa* lipase immobilized into ZIF-8 and investigation of its anticancer applications against K562 leukemia and HeLa cancer cells. **RSC Adv.**, [S. l.], v. 13, p. 35639-35647, 2023.

KHAN, Z. *et al.* Current developments in esterification reaction: A review on process and parameters. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, [S. l.], v. 103, p. 80-101, Nov. 2021.

KINGS RESEARCH. **Mercado de emulsificantes**, [s. l.: s. n.], 2023. Disponível em: <https://www.kingsresearch.com/pt/emulsifiers-market-1170>. Acesso em: 15 out. 2024.

LAMBA, R.; SARKAR, S.; KUMAR, S. Solid acid catalyst supported synthesis and fuel properties of ethyl decanoate. **Fuel**, [S. l.], v. 222, p. 98–104, Jun. 2018.

LIMA, L. C. D.; PERES, D. G. C.; MENDES, A. A. Mendes. Kinetic and thermodynamic studies on the enzymatic synthesis of wax ester catalyzed by lipase immobilized on glutaraldehyde-activated rice husk particles, **Bioproc. Biosyst. Eng.**, [S. l.], v. 41, n. 7, p. 991–1002, Mar. 2018.

LISBOA, M. C. *et al.* Stabilization of water-in-oil emulsions using a wax ester synthesized by a new homemade heterogeneous biocatalyst. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, [S. l.], v. 97, n. 7, p. 1726-1735, Feb. 2022.

MATTOS, F. R. *et al.* Design of a NewChemoenzymatic Process for Producing Epoxidized Monoalkyl Esters from Used Soybean Cooking Oil and Fusel Oil. **Catalysts.**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 543, Mar. 2023..

MANAN, F. *et al.* Enzymatic esterification of eugenol and benzoic acid by a novel chitosan-chitin nanowhiskers supported *Rhizomucor miehei* lipase:f Process optimization and kinetic assessments.. **Enzyme and microbial technology**, [S. l.], v. 108, p. 42-52, Jan. 2018.

MARTÍNEZ-ARCOS, A. *et al.* Properties and potential uses of a biosurfactant extract obtained from corn steep water by a dialysis process. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, [S. l.], v. 252, p. 114649, Aug. 2025.

MUKHERJEE, S.; GHOSH, M. Studies on performance evaluation of a green plasticizer made by enzymatic esterification of furfuryl alcohol and castor oil fatty acid. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 157, p. 1076–1084, Feb. 2017.

MUKHERJEE, S. *et al.* Effects of fatty acid esters on mechanical, thermal, microbial, and moisture barrier properties of carboxymethyl cellulose-based edible films, **Carbohydr. Polym. Technol. Appl.**, [S. l.], v. 7, p. 100505, June 2024.

MONTEIRO, R. R. C. *et al.* Biocatalytic production of biolubricants: Strategies, problems and future trends. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 68, p. 108215, Nov. 2023.

NAÇÕES UNIDAS. **Objetivos de desenvolvimento sustentável**. [S. l.: s. n.], [202-]. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/>. Acesso em: 10 fev. 2024.

NETA, N. A. S. *et al.* Enzymatic synthesis of sugar esters and their potential as surface-active stabilizers of coconut milk emulsions. **Food Hydrocolloids**, [S. l.], v. 27, n. 2, p. 324-331, June 2012.

PENG, B. Enzymatic Synthesis of Polyglycerol Fatty Acid Esters and Their Application as Emulsion Stabilizers, **J. Agric. Food Chem.**, [S. l.], v. 66, n. 30, p. 8104–8113, Jul. 2018.

LIU, P. *et al.* Thermal Properties and Enhanced Thermal Conductivity of Capric Acid/Diatomite/Carbon Nanotube Composites as Form-Stable Phase Change Materials for Thermal Energy Storage. **ACS Omega**, v. 4, n. 2, p. 2964-2972, 2019.

QIU, J.; HAN, R.; WANG, C. Microbial Halophilic Lipases: A Review. **Journal of Basic Microbiology**, [S. l.], v. 61, n. 7, p. 594-602, June 2021.

RAZANI, S. Z. *et al.* Process intensification of 2-ethylhexyl caprylate/caprato synthesis via a pulsed loop reactor: Multi-objective optimization. **Chemical Engineering and Process**, [S. l.], v. 149, p. 107837, Ago. 2020.

RODRIGUES, L. R.; TEIXEIRA, J. A. Enzymatic synthesis of sugar esters and their potential as surface-active stabilizers of coconut milk emulsions. **Food Hydrocolloids**, v. 27, p. 324–331, 2012.

RODRIGUES, R. C. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions. **Biotechnology Advances**, v. 37, p. 746-770, 2019.

ROQUE, C. S. *et al.* Biosynthesis of new amphiphilic esters with emulsifying properties for long-term encapsulation of hydrophobic compounds, **J. Mol. Liq.**, [S. l.], v. 420, p. 126818, Feb. 2025.

SABI, G. J. *et al.* Decyl esters production from soybean-based oils catalyzed by lipase immobilized on differently functionalized rice husk silica and their characterization as potential biolubricants. **Enzyme and Microbial Technology**, [S. l.], v. 157, p. 110019, June 2022.

SABI, G. J. *et al.* Production of environmentally friendly plasticizers derived from soybean oils using biochemical (lipases) and chemical catalysts—Performance in flexible PVC films. **Process Biochemistry**, [S. l.], v. 154, p. 63-74, July 2025.

SAMPAIO, C. S. *et al.* Lipase immobilization via cross-linked enzyme aggregates: Problems and prospects – A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 215, p. 434-449, Aug 2022.

SHARMA, H. *et al.* Decanoic acid mitigates ischemia reperfusion injury by modulating neuroprotective, inflammatory and oxidative pathways in middle cerebral artery occlusion model of stroke in rats, **J. Stroke Cerebrovasc. Dis.**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 107184, Aug. 2023.

SILVA, W. C. E. *et al.* Influence of feedstock source on the biocatalyst stability and reactor performance in continuous biodiesel production. **J. Ind. Eng. Chem.**, [S. l.], v. 20, n. 3, p. 881-886, May 2014.

SILVA, M. V. C. *et al.* Synthesis of Isopropyl Palmitate by Lipase Immobilized on a Magnetized Polymer Matrix. **Chemical Engineering & Technology**, [S. l.], v. 43, n. 9, p. 1741-1748, Sep. 2020.

STERGIOU, P. Y. *et al.* Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 31, n. 8, p. 1846–1859, Dec. 2013.

SOUSA, R. R. *et al.* Solvent-free esterifications mediated by immobilized lipases: a review from thermodynamic and kinetic perspectives, **Catal. Sci. Technol.**, [S. l.], v. 11, n. 17, p. 5696–5711, July 2021.

SURIYA, P. *et al.* Hydrogen production by steam reforming of fusel oil over nickel deposited on pyrolyzed rice husk supports. **Energy Reports**, [S. l.], v. 9, p. 462-469, Oct. 2023.

TODERO, L. M. *et al.* Enzymatic synthesis of isoamyl butyrate catalyzed by immobilized lipase on poly-methacrylate particles: optimization, reusability and mass transfer studies. **Bioprocess Biosyst. Eng.**, [S. l.], v. 38, n. 8, p. 1601–1613, May 2015.

UNGCHAROENWIWAT, P.; KITTIKUN, A. Enzymatic synthesis of coconut oil based wax esters by immobilized lipase EQ3 and commercial lipozyme RMIM. **Electronic Journal of Biotechnology**, [S. l.], v. 47, p. 10-16, Sept 2020

U.S FOOD AND DRUGS. **Inventory of food contact substances listed in 21 CFR**. [S. l.: s. n.], 2024. Disponível em:  
<https://www.hfpappexternal.fda.gov/scripts/fdcc/index.cfm?set=IndirectAdditives&id=DECANOIC ACID>. Acesso em: 18 nov. 2024.

WAFATI, N. S. A. *et al.* Enzymatic synthesis of palm oil-based trimethylolpropane ester as biolubricant base stock catalyzed by Lipozyme 435. **Energy**, [S. l.], v. 260, p. 125061, Dec. 2022.

XIAO, T. *et al.* Advances in emulsion stability: A review on mechanisms, role of emulsifiers, and applications in food. **Food Chemistry: X**, [S. l.], v. 29, p. 102792, Jul. 2025.

YUDHANA, L. *et al.* The effect of ethanol solvent on thermostability and esterification activity of immobilized *Candida rugosa* lipase on celite. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, [S. l.], v. 1187, n. 1, p. 012045, May 2023.

ZHANG, X. *et al.* Chemo-enzymatic epoxidation of *Sapindus mukurossi* fatty acids catalyzed with *Candida* sp. 99–125 lipase in a solvent-free system. **Industrial crops and products**, [S. l.], v. 98, p. 10-18, Apr. 2017.

ZHAO, X. *et al.* Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 44, p. 182–197, Apr. 2015

ZHENG, T. *et al.* Structural modification of waste cooking oil methyl esters as cleaner plasticizer to substitute toxic dioctyl phthalate. **Journal of Cleaner Production**, [S. l.], v. 186, p. 1021-1030, June 2018.

ZHENG, Y.; ZHENG, M.; XIN, B.; GUO, R.; XU, X. Sugar Fatty Acid Esters. *In*: AHMAD, M. u. (org). **Polar Lipids: Biology, Chemistry, and Technology**, [S. l.], 2015. cap. 8, p. 215-243.