

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS**

**NALANDA RIBEIRO MENDES DE MELO**

**PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÉSTERES DE SOLKETILA POR  
HIDROESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE FRITURA EM MEIO ISENTO  
DE SOLVENTES ORGÂNICOS**

**ALFENAS/MG**

**2025**

**NALANDA RIBEIRO MENDES DE MELO**

**PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÉSTERES DE SOLKETILA POR  
HIDROESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE FRITURA EM MEIO ISENTO  
DE SOLVENTES ORGÂNICOS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia Industrial.

Orientador: Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes

**ALFENAS/MG**

**2025**

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas  
Biblioteca Central

De Melo, Nalanda Ribeiro Mendes.

Produção sustentável de ésteres de solketa por hidroesterificação enzimática do óleo de fritura em meio isento de solventes orgânicos / Nalanda Ribeiro Mendes De Melo. - Alfenas, MG, 2025.

39 f. : il. -

Orientador(a): Adriano Aguiar Mendes.

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

Bibliografia.

1. Ésteres de Solketa. 2. Lipases. 3. Óleo de Fritura. 4. Imobilização Enzimática. 5. Macaúba. I. Mendes, Adriano Aguiar, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

**NALANDA RIBEIRO MENDES DE MELO**

**PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE ÉSTERES DE SOLKETILA POR  
HIDROESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE FRITURA EM MEIO ISENTO  
DE SOLVENTES ORGÂNICOS**

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação do Trabalho de Conclusão de Curso apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Biotecnologia Industrial.

Aprovada em: 28 de novembro de 2025

Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Doutorando Guilherme José Sabi  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

Mestrando Felipe Ribeiro Carlos  
Universidade Federal de Alfenas

Assinatura:

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus por me proteger com Sua luz divina, por me manter em pé nas horas mais difíceis e por me inspirar a correr atrás dos meus sonhos sem fraquejar.

À minha mãe, Hélia Magda, e à minha avó Enedina (*In Memoriam*), ambas professoras, por quem tenho profunda admiração por toda a minha vida. Agradeço por sempre me incentivarem na educação, pelos conselhos, pelo carinho e por todo o suporte que me deram para que eu nunca desistisse dos meus sonhos. Agradeço também ao meu irmão Arthur, que está sempre em minhas orações e torce por cada uma das minhas conquistas.

À toda minha família, em especial a Tia Adriana e Leony por me acolherem na casa de vocês para que eu pudesse ter uma melhor oportunidade nos estudos e na vida.

Ao meu amigo e orientador, Prof. Dr. Adriano Aguiar Mendes, por me incentivar na pesquisa, por me acolher como sua aluna e por compartilhar conselhos que levarei para o resto da minha vida. Agradeço imensamente por todos esses anos de orientação, pela disponibilidade em tirar minhas dúvidas e por todos os ensinamentos transmitidos.

Aos meus amigos de faculdade, em especial Beatriz, Giovanna, Leonardo e Lucas, que tornaram os anos de graduação mais leves, com muitas risadas e incentivo para seguirmos firmes a cada semestre.

Aos meus amigos de laboratório, especialmente a José Miguel, Guilherme, Felipe, Lucas Matheus e Raynara, por todo o aprendizado, parceria e apoio em cada projeto desenvolvido. Agradeço por nunca hesitarem em me ajudar e por me incentivarem a ir cada vez mais longe.

Aos órgãos de fomento CAPES, CNPq e FAPEMIG pelo incentivo à pesquisa e a UNIFAL-MG pelo suporte nas atividades acadêmicas.

Por fim, agradeço todos que direta ou indiretamente contribuíram neste trabalho e que me incentivou a ser uma pessoa melhor.

## RESUMO

Nos últimos anos, observa-se que há um grande empenho no desenvolvimento de processos sustentáveis voltados à reciclagem e ao reaproveitamento de resíduos agroindustriais, como os óleos vegetais usados e os resíduos de biomassa lignocelulósica. Dessa forma, o presente estudo consiste na produção enzimática de ésteres de solketila, uma importante classe de compostos utilizados na indústria como aditivo em combustíveis, emulsificantes e plastificantes. Esse processo ocorreu a partir da hidroesterificação do óleo de fritura, por meio da sua conversão em ácidos graxos livres (AGLs) na reação de hidrólise enzimática, empregando a lipase de *Candida rugosa* (LCR) como catalisador. Posteriormente, foi realizada a esterificação dos AGLs, e do solketal, em reator aberto e sistema isento de solventes orgânicos. Na reação de esterificação, foi utilizada como catalisador a lipase Eversa® Transform 2.0 (ET2.0), anteriormente imobilizada por adsorção física em partículas pré-tratadas do epicarpo da Macaúba, um resíduo agroindustrial. A imobilização ocorreu em meio de pH 5,0 em uma temperatura de 25°C por 15 horas. Foi avaliada a atividade catalítica das partículas imobilizadas em relação a sua forma livre (lipase solúvel). Houve uma conversão máxima de 58% após 90 minutos de reação, nas condições de 60°C, razão molar AGLs:solketal de 1:1,6 e massa de 17% da lipase imobilizada. Manteve-se as condições para a lipase livre, que obteve uma conversão de apenas 42,3% após 30 minutos de reação. Posteriormente, foi realizado testes de reuso do biocatalisador para verificar a sua estabilidade, que manteve em 74% da sua atividade após 6 bateladas de esterificação. Os resultados indicam que houve uma melhora na atividade catalítica e na estabilidade operacional utilizando um resíduo agroindustrial (epicarpo da macaúba) como suporte para imobilização enzimática.

**Palavras-chave:** Ésteres de Solketila, Lipases, Óleo de Fritura; Imobilização Enzimática; Macaúba

## ABSTRACT

In recent years, there has been a strong commitment to developing sustainable processes for recycling and managing agro-industrial waste, such as used vegetable oils and lignocellulosic biomass residues. Thus, this paper consists on the enzymatic production of sorbitan esters, an important class of compounds used in industrially as additives in fuels, emulsifiers, and plasticizers. This process occurred from the hydroesterification of used cooking soybean oil through its conversion into free fatty acids (FFAs) in the enzymatic hydrolysis reaction, using *Candida rugosa* lipase (LCR) as a catalyst. Subsequently, the FFA from the hydrolysis process and the solketal were esterified in open reactor and in a system free of organic solvents. In the esterification reaction, previously immobilized Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0) lipase was used as a catalyst, with pretreated particles of Macauba epicarp, an agroindustrial waste product, as support. Immobilization occurred in pH 5.0 medium at a temperature of 25°C for 15 hours. The catalytic activity of the immobilized particles was compared to its free form (soluble lipase). The maximum conversion was 58% after 90 minutes of reaction, under conditions of 60°C, molar ratio of AGLs:solketal of 1:1.6, and mass of 17% of the immobilized lipase. The same conditions were used for free lipase, achieving maximum conversion of only 42.3% after 30 minutes of reaction. Subsequently, tests were carried out to reuse the biocatalyst to verify its stability, which maintained 74% of its activity after six batches of esterification. The results indicate that there was an improvement in catalytic activity and operational stability using an agroindustrial waste product (macauba epicarp) as a support for enzyme immobilization.

**Keywords:** Solketal Esters, Lipases, Cooking Oil; Enzyme Immobilization; Macauba

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema representativo da reação de hidrólise de triacilglicerol para produção de ácidos livres e glicerol.....	13
Figura 2 - Esquema representativo da reação de cetalização do glicerol com acetona para produção de solketal e água.....	14
Figura 3 - Esquema representativo do mecanismo da ativação interfacial.....	15

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AGLs	Ácidos Graxos Livres
CAGR	Taxa de Crescimento Anual Composta
EGS	Ésteres Graxos de Solketa
ET2.0	Eversa® Transform 2.0
LCR	Lipase de <i>Candida Rugosa</i>
OCU	Óleo de Cozinha Usado
ODS	Objetivos de Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>12</b>
2.1	UTILIZAÇÃO DO ÓLEO DE FRITURA.....	12
2.2	ÉSTERES DE SOLKETILA.....	13
2.3	LIPASES.....	14
2.4	A MACAÚBA.....	17
<b>3</b>	<b>CAPÍTULO DE LIVRO 1.....</b>	<b>19</b>
<b>4</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>34</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Atualmente, observa-se que desenvolver técnicas que promovam o avanço industrial de forma sustentável e que minimizem os impactos ambientais é de extrema importância para o meio ambiente (Cavalcante *et al.*, 2021; Rosset *et al.*, 2019). Dessa forma, observa-se que o uso de combustíveis fósseis atende a maior parte da demanda energética e a utilização desses recursos não renováveis e a constante exploração desses combustíveis pode resultar em uma crise energética nas próximas décadas, o que torna relevante buscar alternativas sustentáveis de fontes de energia (Bhatia *et al.*, 2020; Ang *et al.*, 2022).

Na contemporaneidade, a produção global do óleo de cozinha usado (OCU), em sua grande maioria provenientes da soja, gira em torno de 15 milhões de toneladas por ano (Cui *et al.*, 2022). O descarte inadequado e descontrolado do OCU desencadeia em impactos ambientais severos como a impermeabilização do solo e poluição de recursos hídricos e perdas econômicas consideráveis, como custos elevados de manutenção ou reparos (De Feo *et al.*, 2020; De Feo *et al.*, 2023). Com a finalidade de promover a economia circular e mitigar os efeitos negativos ao meio ambiente, o OCU vem sendo aplicado como matéria-prima no setor industrial na síntese de produtos com alto valor agregado, como biossurfactantes, biolubrificantes e, especialmente, biodiesel, (De Feo *et al.*, 2020; De Feo *et al.*, 2023).

A crescente produção global de biodiesel nas últimas décadas tem resultado na geração de grandes volumes de glicerol como subproduto (ref). Esse composto vem sendo amplamente estudado por seu potencial como matéria-prima sustentável na síntese de diversos produtos químicos de alto valor agregado, entre eles o solketal, também denominado (2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il) metanol ou 1,2-o-isopropilidenoglicerol (Mendoza-Ortiz *et al.*, 2020).

O solketal é amplamente utilizado na síntese de ésteres de solketila, uma classe valiosa de compostos químicos com ampla aplicação industrial, sendo empregados como suplementos dietéticos, agentes antimicrobianos, aditivos oxigenados em combustíveis e agentes plastificantes (Sankaranarayanan; Jindapon; Ngamcharussrivichai, 2017). Os ésteres de solketila são obtidos através de reações de esterificação e/ou transesterificação, e utiliza-se catalisadores químicos em sua síntese (Souza *et al.*, 2022). Esse processo costuma ser realizado em condições severas, com temperaturas elevadas, normalmente acima de 90°C, e uso de grandes

volumes de solventes orgânicos tóxicos, a fim de atingir alto rendimento (Mariam *et al.*, 2022).

Dessa forma, a utilização de enzimas, em especial as lipases (triacilglicerol-acil hidrolases, EC 3.1.1.3), tem gerado interesse devido às suas vantagens, como alta seletividade e especificidade em condições brandas de reação, além de dispensar ou reduzir o uso de solventes tóxicos (Mendoza-Ortiz *et al.*, 2020). Entretanto, as lipases quando utilizadas em sua forma livre podem apresentar instabilidade operacional, térmica e de pH, além da difícil recuperação do meio para utilizá-lo em processos posteriores (Souza *et al.*, 2020; Rodrigues *et al.*, 2019). Assim, a imobilização enzimática torna-se uma técnica interessante por apresentar uma fácil separação e reutilização, além de levar a alterações na atividade e especificidade, o que pode levar a uma melhora no desempenho catalítico devido às interações enzima-suporte (Rodrigues *et al.*, 2019).

As matérias-primas lignocelulósicas como cascas de arroz, bagaço e fibras vegetais têm se mostrado suportes promissores para a imobilização de lipases devido à sua ampla disponibilidade, baixo custo e versatilidade química (Girelli; Chiappini, 2023). Grupos hidroxila e carboxila na superfície permitem tanto adsorção física quanto modificações químicas que melhoram a fixação enzimática e a estabilidade operacional (Girelli; Chiappini, 2023). A preparação e o pré-tratamento desses resíduos, como os de natureza alcalina, física ou por funcionalização, são etapas cruciais para ajustar características como porosidade, área superficial e afinidade hidrofóbica, propriedades que influenciam diretamente a atividade catalítica e a reusabilidade das lipases imobilizadas (Sabi *et al.*, 2022).

Portanto, o principal objetivo deste trabalho foi produzir ésteres de solsetila de forma sustentável a partir do OCU, a fim de substituir a rota química e conseqüentemente eliminar a produção de resíduos tóxicos ao meio ambiente. Esse processo ocorreu em meio isento de solventes orgânicos e foi realizado em duas etapas (hidroesterificação). Além disso, foi utilizado um resíduo agroindustrial (epicarpo da Macaúba) como suporte para imobilização enzimática. Essa é uma alternativa promissora que visa, principalmente, a otimização do processo operacional por permitir a reutilização do biocatalisador e buscar por soluções inovadoras e sustentáveis para combater os impactos ambientais e energéticos e cumprir com a Agenda 2030 e aos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) proposto pela Organização das Nações Unidas (ONU).

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 A UTILIZAÇÃO DO ÓLEO DE FRITURA

O óleo de cozinha usado (OCU) é um resíduo líquido amplamente produzido em residências, restaurantes e na indústria alimentícia. Estima-se que cerca de 15 milhões de toneladas sejam geradas anualmente em todo o mundo. Contudo, a taxa de reutilização desse resíduo ainda é considerada baixa (Cui *et al.*, 2022). Estimativas recentes indicam que o setor movimentará cerca de US\$ 7,46 bilhões ainda em 2025, com projeções para US\$13,97 bilhões em 2035, apresentando uma taxa de crescimento anual composta (CAGR) de 6,4% de 2026 a 2035 (Business Research Insights, 2025). Dessa forma, o reaproveitamento do OF desperta interesse devido às suas aplicações tecnológicas, que contribuem para o avanço da economia circular e para a substituição de fontes fósseis de energia (Barreto *et al.*, 2024).

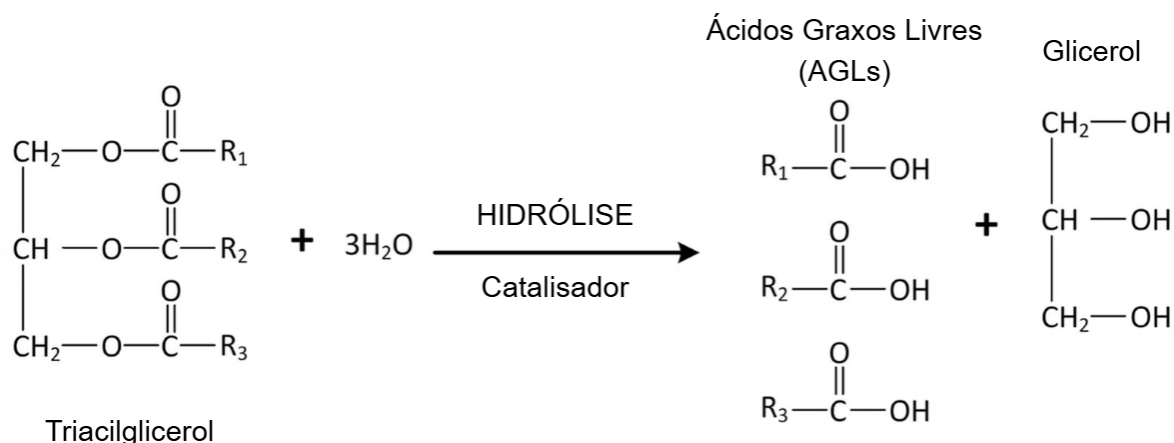
Os OCU são compostos principalmente por triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos e ácidos graxos livres (AGLs), formados durante o processo de fritura (De Feo *et al.*, 2023). Um método para o aproveitamento desses compostos é a reação de hidroesterificação, um processo sequencial que envolve a hidrólise do OCU, seguida de purificação e esterificação (Chowdhury; Mitra; Biswas, 2013) dos AGLs obtidos. Essa abordagem elimina o glicerol, um possível competidor na etapa de esterificação, e evita a inibição ou inativação da enzima quando utilizada em sua forma imobilizada (Séverac *et al.*, 2011).

A hidrólise é uma das principais vias para obtenção de AGLs (Figura 1). Nessa reação, as moléculas de triacilglicerol são convertidos, na presença de um catalisador e água, em ácidos graxos livres e glicerol (Zenevycz *et al.*, 2016; Gioielli *et al.*, 1995). Em seguida, os AGLs podem ser esterificados com um álcool, formando ésteres e água. Esse processo sequencial tem ganhado destaque na produção de ésteres por permitir o uso de diversas matérias-primas graxas e por resultar em produtos de maior pureza (Zenevycz *et al.*, 2016).

A hidrólise de óleos e gorduras requer o uso de catalisadores, que podem ser químicos ou enzimáticos. o método químico demanda altas temperaturas e pressões, o que resulta em produtos de menor pureza, altos custos operacionais e impactos ambientais significativos (Kuang *et al.*, 2022; Satyarthi; Srinivas; Ratnasamy, 2011). Por esse motivo, o uso de lipases não específicas, especialmente microbianas como

as provenientes de *Candida rugosa*, tem sido amplamente estudado (ref). Essas enzimas oferecem vantagens importantes, já que o emprego de lipases específicas tende a gerar baixos rendimentos reacionais (Sabi *et al.*, 2022; Carvalho *et al.*, 2021).

Figura 1 – Esquema representativo da reação de hidrólise de triacilglicerol para produção de ácidos graxos livres e glicerol.



Fonte: Adaptado de Sabi *et al.* (2022).

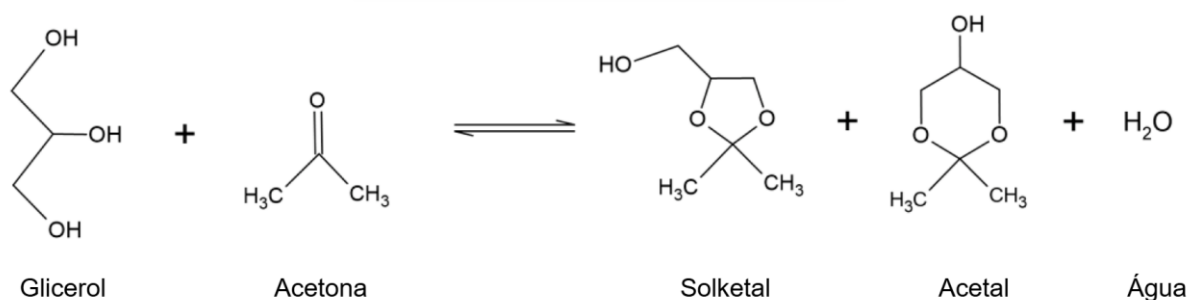
## 2.2 ÉSTERES DE SOLKETILA

O biodiesel é considerado uma alternativa para substituir os combustíveis fósseis no setor logístico por ser produzido de forma sustentável, ser biodegradável e minimizar emissões químicas, além de possuírem propriedades semelhantes aos dos combustíveis fósseis convencionais (Changmai *et al.*, 2020). Ainda, apresentam melhores propriedades como alta eficiência a combustão, alto ponto de fulgor, alto índice de cetano, menor emissão de dióxido de carbono, menor teor de enxofre e melhor lubrificação (Changmai *et al.*, 2020). São produzidos a partir de óleos vegetais e gorduras animais, que necessitam passar por reações de transesterificação com a finalidade de reduzir a sua viscosidade (Fazal; Haseeb; Masjuki, 2011). Como resultado desta reação, são gerados ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) e glicerol como subproduto, o que equivale a cerca de 10% da produção do biodiesel (Ao; Rokhum, 2022).

O aumento na demanda por biodiesel acarretou, também, na produção de um elevado volume de glicerol residual. Este glicerol vem sendo utilizado na síntese

sustentável de distintos produtos químicos, destacando-se a produção do solketal (Nanda *et al.*, 2016). O solketal é um cetal cíclico oxigenado que contém dois grupos metil. Sua síntese se baseia na cetalização do glicerol com acetona na presença de um catalisador ácido, gera água como subproduto, como pode-se observar na Figura 2 (Corrêa; Faria; Rodrigues, 2021).

Figura 2 – Esquema representativo da reação de cetalização do glicerol com acetona para produção de solketal e água.



Fonte: Adaptado de Corrêa, Faria e Rodrigues, (2021).

Observa-se que há um grupo hidroxila na estrutura molecular do solketal. Essa hidroxila é de extrema importância na utilização do solketal para produção de ésteres graxos de solketila (EGS), por servir como uma fonte de álcool na reação (Zahid *et al.*, 2020).

Os ésteres de solketal são potenciais aditivos de combustíveis, lubrificantes, solventes, aromatizantes e plastificantes, além de ser utilizado como agentes emulsificantes, apresentando uma ótima propriedade antimicrobiana (Mendoza-Ortiz *et al.*, 2020). Em geral, os EGS são produzidos a partir da reação de esterificação de ácidos graxos e solketal e é utilizado lipase como catalisador (Miguel Júnior *et al.*, 2024; Mendoza-Ortiz *et al.*, 2020)

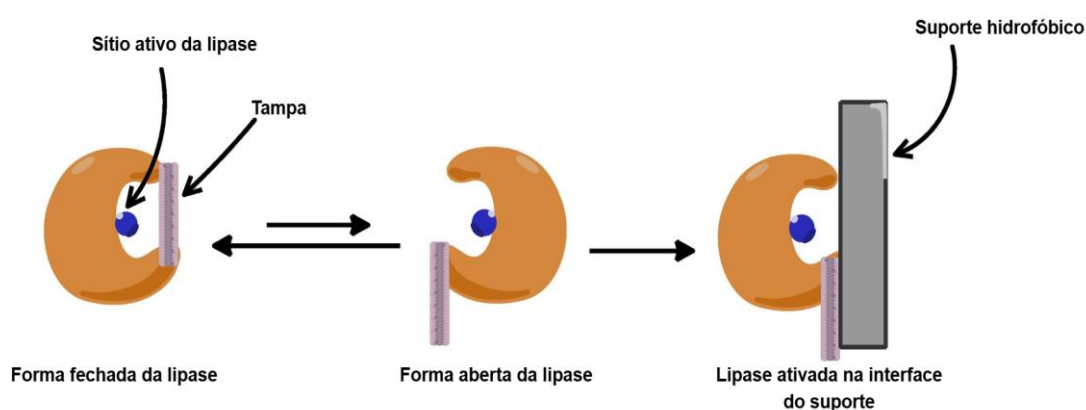
### 2.3 LIPASES

As lipases são enzimas de grande importância biotecnológica, reconhecidas por sua elevada eficiência catalítica, principalmente em reações de hidrólise e esterificação. Esses tipos de reações possuem ampla aplicação em diferentes segmentos industriais (Chandra *et al.*, 2020). As lipases pertencem a família das  $\alpha/\beta$

hidrolases e possui um centro ativo que contém uma serina nucleofílica, um ácido aspártico ou glutâmico e uma histidina (Schreck; Gruden, 2014).

Algumas lipases apresentam uma região flexível e relativamente conservada denominada *tampa*, a qual sofre modificações conformacionais durante o processo de ativação interfacial, originando duas conformações distintas: a forma aberta (ativa) e a forma fechada (inativa) da enzima (Figura 3). Essa estrutura possui uma face interna de caráter hidrofóbico, responsável por interagir com o ambiente igualmente hidrofóbico localizado ao redor do centro ativo (Rafiee; Rezaee, 2021).

Figura 3 - Esquema representativo do mecanismo da ativação interfacial.



Fonte: Adaptado de Rafiee e Rezaee (2021).

Na conformação aberta, a “tampa” sofre um deslocamento que expõe um bolso hidrofóbico ao meio, possibilitando o acesso do substrato ao sítio ativo da enzima (Manoel *et al.*, 2015). Entretanto, essa conformação apresenta instabilidade em sistemas aquosos e homogêneos, pois é capaz de formar agregados enzimáticos, impossibilitando a difusão de substratos (Miguel Júnior *et al.*, 2022; Rafiee; Rezaee, 2021; Manoel *et al.*, 2015).

Quando a lipase está na forma fechada, a “tampa” cobre o sítio ativo da enzima e o separa do meio em que ocorre a reação. Ao entrar em contato com um substrato hidrofóbico, a tampa se move e deixa o centro ativo exposto, permitindo que a reação aconteça. Esse processo é conhecido como ativação interfacial (Parandi *et al.*, 2022).

A imobilização da lipase em suportes de natureza hidrofóbica, contudo, contribui para a estabilização dessa forma ativa, além de reduzir a ocorrência de auto agregação entre as moléculas enzimáticas (Manoel *et al.*, 2015). Ela apresenta vantagens no aumento da estabilidade do biocatalisador, na taxa de transferência de

massa dos reagentes e na possibilidade de recuperação e reutilização (Ismail; Baek, 2020).

### 2.3.1 Imobilização de Lipases e suportes

Dentre os métodos empregados para a imobilização de lipases, a adsorção física é o mais utilizado e ocorre por meio de interações intermoleculares como forças eletrostáticas e hidrofóbicas, entre a enzima e um suporte sólido poroso em contato com a solução enzimática (Rafiee; Rezaee, 2021; Nguyen; Kim, 2017). Esse procedimento depende de condições controladas, ajustadas conforme as características e a atividade do tipo de lipase utilizada (Rafiee; Rezaee, 2021; Nguyen; Kim, 2017).

Os suportes lignocelulósicos têm ganhado destaque na imobilização de enzimas por serem materiais naturais, baratos e sustentáveis. Eles são obtidos de resíduos vegetais, como bagaço de cana, palha de arroz e serragem, o que reduz o impacto ambiental e aproveita subprodutos da agricultura (Girelli; Chiappini, 2023). Entretanto, apesar de apresentarem tais vantagens, os materiais lignocelulósicos apresentam desafios quando aplicados para imobilização enzimática, como potencial variabilidade nas propriedades do material, necessidade de pré-tratamento para aumentar a acessibilidade e porosidade (Zieniuk *et al.*, 2024)

O desempenho das enzimas imobilizadas nesses suportes depende do tratamento aplicado ao material antes do uso. A remoção de extrativos, hemicelulose e lignina é crucial pois a presença de tais componentes pode alterar a atividade catalítica da lipase no processo de imobilização, indicando que o pré-tratamento desse material é de extrema importância para aumentar a porosidade deste material e consequentemente aumentar a sua atividade catalítica (Miguel Júnior *et al.*, 2024; Bijoy *et al.*, 2022).

Outro fator importante é o tipo de interação entre a enzima e o suporte. Em lipases, por exemplo, superfícies hidrofóbicas favorecem a imobilização, já que esse tipo de enzima é ativado em contato com superfícies apolares (Guimarães *et al.*, 2023). O uso de suportes lignocelulósicos funcionais, como sílica modificada a partir de casca de arroz, tem se mostrado eficiente para a imobilização de lipases no processo de esterificação, apresentando altos rendimentos e estabilidade operacional (Sabi *et al.*, 2022).

Além de serem sustentáveis, os suportes lignocelulósicos também oferecem boa estabilidade e permitem que a enzima seja reutilizada várias vezes sem grande perda de atividade. Isso representa uma vantagem econômica importante para aplicações industriais, pois reduz custos (Miguel Júnior *et al.*, 2024). Assim, o uso desses materiais tem se mostrado uma alternativa eficiente e ecológica para o desenvolvimento de biocatalisadores mais duráveis e sustentáveis.

## 2.4 A MACAÚBA

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é uma palmeira nativa da América Latina, muito comum no Brasil, especialmente em regiões do Cerrado (Coimbra; Jorge, 2011). Essa planta por seu grande potencial econômico e ambiental. Seus frutos possuem alto teor de óleo tanto na polpa quanto na amêndoa, o que permite o uso na produção de biocombustíveis, cosméticos e alimentos (Da Costa Lima Pires *et al.*, 2023; Rencoret *et al.*, 2018). Além do óleo, outras partes do fruto, como a casca, o bagaço e a torta resultante da extração, também podem ser aproveitadas na obtenção de produtos de alto valor agregado (Da Costa Lima Pires *et al.*, 2023; Rencoret *et al.*, 2018).

O fruto da macaúba (*Acrocomia aculeata*) é classificado como uma drupa composta por um epicarpo (casca) liso e resistente, um mesocarpo (polpa) fibroso e oleaginoso, e um endocarpo duro que protege a amêndoa. O óleo se concentra principalmente na polpa e na amêndoa, que são as partes mais exploradas pela indústria. Em contrapartida, o epicarpo e o endocarpo, que representam uma fração significativa do fruto, costumam ser descartados como resíduos durante o processamento do óleo (Rencoret *et al.*, 2018; Evaristo *et al.*, 2016; Del Río *et al.*, 2016).

O epicarpo e o endocarpo da macaúba são as partes mais duras do fruto, conhecidas como camadas lignificadas do pericarpo. O epicarpo é formado por células compactas que ajudam a proteger o fruto, enquanto o endocarpo é composto por células muito resistentes e ricas em lignina, o que dá a ele uma textura rígida e espessa (Rencoret *et al.*, 2018).

Devido essas características, esses resíduos vêm sendo estudados como suporte natural para imobilização de enzimas, um processo usado para aumentar a estabilidade e o reaproveitamento das enzimas, em especial lipases, em reações

industriais. Os grupos químicos presentes nesses materiais, como hidroxilas e carboxilas, ajudam na fixação das enzimas, e a boa resistência térmica e mecânica garante que elas funcionem bem em diferentes condições (Rafiee; Rezaee, 2021).

Utilizar resíduos da macaúba como suporte é vantajoso porque o material é natural, renovável e de baixo custo, podendo substituir suportes sintéticos mais caros e poluentes, como resinas e sílica (Corici *et al.*, 2016). Além disso, essa prática está de acordo com os princípios da economia circular, ao transformar resíduos em produtos de maior valor e reduzir o impacto ambiental (Gaur *et al.*, 2022).

Um estudo recente utilizou partículas tratadas do epicarpo da macaúba para imobilização de lipase, alcançando boa carga proteica e rendimento de imobilização, o que demonstra a viabilidade desse resíduo como suporte funcional para biocatálise heterogênea (Miguel Júnior *et al.*, 2024).

### 3 CAPÍTULO DE LIVRO 1

#### **Produção sustentável de ésteres de solketa por hidroesterificação enzimática do óleo de fritura em meio isento de solventes orgânicos**

Nalanda Ribeiro Mendes de Melo

Kiara Faria de Assis

José Miguel Júnior

Luiz Fernando Gorup

Adriano Aguiar Mendes

#### **Resumo**

Este estudo teve como objetivo principal a produção de ésteres de solketa, uma classe de ésteres com propriedades plastificantes, por hidroesterificação enzimática do óleo de soja residual (fritura). Este processo consistiu na conversão do óleo em ácidos graxos livres (AGLs) por hidrólise catalisada pela lipase de *Candida rugosa* (LCR) em sistema isento de emulsificantes e agentes tamponantes, seguido da esterificação direta dos AGLs obtidos com solketal em sistema isento de solventes. Nessa segunda etapa, a lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0) imobilizada por adsorção física em partículas pré-tratadas do epicarpo (casca) da macaúba (*Acrocomia aculeata*), um resíduo lignocelulósico, foi empregada como biocatalisador. O seu desempenho catalítico foi comparado com a sua forma livre (lipase solúvel). A lipase foi imobilizada em pH 5,0 (tampão acetato de sódio – 5 mmol/L) a 25°C por 15 h de contato. Nestas condições, a concentração de proteína imobilizada foi de  $25,2 \pm 1,3$  mg/g empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg/g de suporte, cerca de 5 vezes maior que a proteína imobilizada no suporte não tratado (da ordem de 5 mg/g de suporte). Máxima porcentagem de conversão de 58% foi alcançada após 90 min de reação conduzida a 60°C empregando razão molar AGLs:solketal de 1:1,6 e 17% em massa de ET2.0 imobilizada. Nestas mesmas condições, máxima conversão obtida para a lipase livre (forma solúvel) foi de apenas 42,3% após 30 min de reação. Testes de reuso mostraram que a lipase imobilizada reteve 74% de sua

atividade inicial após seis bateladas consecutivas de esterificação. Estes resultados mostram claramente que o processo de imobilização empregando um resíduo agroindustrial como suporte (partículas pré-tratadas do epicarpo da macaúba) melhorou a atividade catalítica e a estabilidade operacional (reuso) de ET2.0 após sucessivas bateladas de reação em meio orgânico.

**Palavras-chave:** Ésteres de solketila. Óleo de fritura. Lipase. Hidroesterificação.

## 1. Introdução

Ésteres de solketila constituem uma relevante classe de compostos químicos amplamente empregados como aditivos em combustíveis (Barbosa et al., 2019; Mariam et al., 2022), emulsificantes (Villa et al., 2020), e plastificantes (Lee et al., 2023). Tradicionalmente, a sua produção ocorre por reações de esterificação e/ou transesterificação utilizando catalisadores químicos convencionais de natureza ácida ou básica (Mariam et al., 2022; Neamtu et al., 2019; Perosa et al., 2016; Sultanova et al., 2023; Yang et al., 2014). De um modo geral, esses processos são conduzidos em condições severas, com temperaturas elevadas (acima de 90°C) e a utilização de grandes volumes de solventes orgânicos tóxicos a fim de alcançar altos rendimentos (Mariam et al., 2022; Neamtu et al., 2019; Yang et al., 2014).

Nesse contexto, a aplicação de lipases como catalisadores surge como uma alternativa atrativa à rota química convencional, uma vez que atuam em condições brandas, reduzindo a demanda energética e apresentando alta especificidade e seletividade, o que diminui a formação de subprodutos indesejáveis. Além disso, o uso de lipases contribui para a minimização da geração de resíduos e simplificação das etapas de separação e purificação dos produtos (Sousa et al., 2021; Stergiou et al., 2013).

As lipases (triacilglicerol acilhidrolases, EC 3.1.1.3) são enzimas que pertencem à família das serinas hidrolases que catalisam a hidrólise de óleos e gorduras em glicerol e ácidos graxos livres na interface óleo-água. Em meio orgânico, essas enzimas também catalisam reações de esterificação, transesterificação, interesterificação e acidólise para a produção de uma grande variedade de ésteres de interesse industrial tanto nas formas livre (formulações em pó ou líquidas) quanto

imobilizadas em distintos suportes (Bolina et al., 2021; Monteiro et al., 2021; Sousa et al., 2021; Stergiou et al., 2013). Na maioria dos estudos relatados na literatura, ainda emprega sistemas contendo solventes orgânicos para aumentar a solubilidade dos reagentes e reduzir a viscosidade do meio para favorecer os processos de transferência de massa dos reagentes ao microambiente da enzima (Boncel et al., 2023; Johnny et al., 2019; Mine et al., 2005; Romano et al., 20026; Villa et al., 2020). Entretanto, a adoção de processos isentos de solventes tem despertado crescente interesse por possibilitar o desenvolvimento de processos mais sustentáveis e ambientalmente corretos (Bolina et al., 2021; Sousa et al., 2021). Estes processos oferecem diversas vantagens como o aumento da produtividade volumétrica (sistemas reacionais contendo apenas matérias-primas), menor demanda e custos de energia nas etapas de separação e purificação dos produtos e minimização da geração de resíduos (Sousa et al., 2021).

A aplicação de lipases como biocatalisadores em reações de síntese orgânica tem sido preferencialmente realizada na forma imobilizada. Estas enzimas têm sido imobilizadas em uma variedade de suportes naturais e sintéticos (materiais orgânicos, inorgânicos e híbridos) utilizando diferentes estratégias que envolvem interações físicas e/ou químicas (Bolivar et al., 2022). Dentre os diferentes protocolos, a imobilização pelo mecanismo de ativação interfacial (adsorção física por interações hidrofóbicas em baixa força iônica) é a técnica mais comumente utilizada. Este método permite a simultânea imobilização, purificação, estabilização e hiperativação de lipases em sua conformação aberta na superfície dos suportes (Bolivar et al., 2022; Rodrigues et al., 2019).

Neste contexto, o presente estudo teve como objetivo o desenvolvimento de um processo sustentável para a produção de ésteres de solketila a partir de óleo de fritura residual (óleo de soja usado) por hidroesterificação, explorando as potencialidades catalíticas de diferentes lipases em cada etapa do processo. Essa estratégia foi adotada com o intuito de superar limitações associadas à transesterificação direta de óleos vegetais e/ou residuais com álcoois, a qual, frequentemente, demanda longos tempos reacionais e temperaturas elevadas para viabilizar a difusão dos reagentes até o microambiente ativo das lipases imobilizadas (Bolina et al., 2021).

Na primeira etapa do processo, realizou-se a hidrólise completa do óleo em ácidos graxos livres (AGLs) catalisada pela lipase comercial não específica de

*Candida rugosa* – LCR (Carvalho et al., 2021). Em seguida, os AGLs obtidos foram empregados na reação de esterificação com solketal em sistema isento de solventes. Nesta etapa, foi utilizada a lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0), uma preparação enzimática de baixo custo que possui elevada atividade catalítica e estabilidade em reações de síntese orgânica. Esta lipase é derivada do fungo *Thermomyces lanuginosus* expressa heterologicamente em *Aspergillus oryzae* (Monteiro et al., 2021). Para esta etapa, a lipase ET2.0 foi imobilizada por adsorção física em partículas do epicarpo de *Acrocomia aculeata* (macaúba).

A macaúba (Figura 1A) é uma palmeira nativa de florestas tropicais e savanas da América Central e do Sul, com produtividade de óleo (polpa e amêndoa) acima de 6 toneladas por hectare (Ampese et al., 2021; Lopes et al., 2013; Silva et al., 2016). Essa oleaginosa tem sido considerada uma promissora produtora de óleos para a produção de biodiesel e bioquerosene para aviação (Lopes et al., 2013; Silva et al., 2016). No entanto, o seu processamento produz uma grande quantidade de resíduos. Portanto, este estudo consiste no uso do epicarpo da macaúba (Figura 1B) gerado no processo de extração do óleo como um suporte renovável e ecológico para imobilizar ET2.0. A utilização deste material para a imobilização de lipases ainda é muito pouco explorada pela literatura.



**Figura 1:** Ilustração da macaúba (A) e dos frutos (B), em destaque o epicarpo.

## 2. Materiais e Métodos

### 2.1 Materiais

Lipase Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0 (ET2.0), uma formulação enzimática solúvel contendo 35 mg de proteína por mL de solução, e lipase de *Candida rugosa* (LCR), uma preparação enzimática na forma em pó contendo 24,5 mg de proteína por g de sólido, foram adquiridas da Sigma–Aldrich Co. (St. Louis, MO, EUA). Frutos da macaúba foram coletados no Bioma Cerrado na Universidade Federal de São João del-Rei – *Campus* Sete Lagoas (Sete Lagoas, MG). O óleo de soja usado em fritura foi obtido em um restaurante de *fast-food* em Alfenas, MG. Solketal (isopropilideno glicerol ou 2,2-Dimetil1,3-dioxolan-4-il) metanol) foi também adquirido da Sigma-Aldrich. Todos os outros reagentes químicos foram de grau analítico adquiridos da Synth<sup>®</sup> (São Paulo, SP, Brasil).

### 2.2 Preparação do suporte

O processo de preparação do suporte é descrito em detalhe em um estudo recente conduzido em nosso grupo de pesquisa (Miguel Júnior et al., 2024). Partículas do epicarpo de macaúba foram obtidas por remoção manual das cascas do fruto, seguido de trituração em moinho de facas e classificação do tamanho de partículas em sistemas de peneiras rotativas. O material obtido com distribuição de tamanho de partícula entre 75 e 120  $\mu\text{m}$  foi recuperado. 30 g deste material foram refluxados duas vezes em 400 mL de solução de ácido clorídrico (3,5% m/m – proporção HCl:água de 1:9 por 2 h a 120°C). O material obtido foi lavado duas vezes com água destilada (relação suporte:água de 1:5) e, em seguida, imerso 2 vezes consecutivas em 100 mL de solução de etanol a 70% m/m com contínua agitação mecânica (200 rpm) em incubadora rotativa com controle de temperatura (25°C). Finalmente, o material pré-tratado foi lavado com água destilada (relação suporte:água de 1:5), seco em estufa a 25°C e utilizado como suporte.

Os materiais obtidos (partículas não tratadas e pré-tratadas) foram caracterizados por microscopia eletrônica de varredura (MEV) empregando um microscópio FEG-SEM modelo a Zeiss Supra 35VP operado a 20 keV. As imagens foram registradas com diferentes ampliações variando de 23 a 188 vezes.

### *2.3 Processo de imobilização de ET2.0 por adsorção física (interação hidrofóbica)*

A imobilização por adsorção física de ET2.0 foi conduzida em tampão fosfato de sódio pH 5,0 (força iônica de 5 mmol/L) na relação suporte:solução enzimática de 1:20 empregando um carregamento inicial de proteína de 40 mg/g de suporte (Alves et al., 2017; Carvalho et al., 2021). O processo de imobilização foi acompanhado pela determinação da concentração de proteína desaparecida no sobrenadante de imobilização pelo método de Bradford (Bradford, 1976). Neste estudo, o desempenho de imobilização do suporte pré-tratado foi comparado com o suporte não tratado (material obtido após o processo de classificação de tamanho de partículas por peneiras rotativas).

### *2.4 Produção dos ésteres pelo processo de hidroesterificação enzimática*

A hidrólise enzimática do óleo de soja usado para a produção de AGLs foi realizada conforme metodologia descrita por Carvalho et al. (2021). 50 g de meio reacional contendo apenas água destilada e óleo vegetal na proporção de 40% em massa foram adicionados em frascos com capacidade de 250 mL e mantidos em constante agitação mecânica (1500 rpm) a 40°C. Após o equilíbrio da temperatura no sistema de reação (cerca de 15 min), foram adicionados 3,2 g/L da formulação enzimática LCR na forma em pó. Ao final de 3 h de reação, tempo mínimo necessário para a completa conversão do óleo em uma mistura de AGLs, o sistema reacional foi transferido para um funil de separação (capacidade de 100 mL) para a recuperação dos AGLs produzidos. A parte inferior (fase aquosa) foi descartada e a parte superior foi lavada 5 vezes com água destilada a 50°C (proporção volumétrica 1:1) para a remoção de glicerol residual. Os AGLs obtidos foram empregados como matéria-prima na esterificação.

As reações de esterificação direta dos AGLs obtidos na etapa de hidrólise e solketal foram realizadas em meios isentos de solventes orgânicos catalisadas por ET2.0 livre (forma solúvel) e imobilizada em partículas pré-tratadas de epicarpo de macaúba. As reações foram realizadas em frascos abertos (evaporação da água gerada na reação à pressão atmosférica) contendo 6 g de meio reacional, preparados na razão molar AGLs:solketal de 1:1,6, 240 rpm, 60°C e 17% em massa de lipase imobilizada que corresponde a uma concentração de proteína de 4,28 mg de proteína

por grama de mistura reacional (Miguel Júnior et al., 2024). A lipase solúvel (livre) foi também usada como catalisador empregando a mesma concentração de proteína (0,78 mL da formulação líquida que também corresponde a 4,28 mg de proteína por grama de meio de reação). Amostras do meio reacional (50 µL) foram periodicamente retiradas e diluídas em etanol hidratado (95% m/m) para a determinação do consumo de AGLs na reação por titulação com solução de NaOH 40 mmol/L, empregando fenolftaleína como indicador. Este procedimento foi necessário para a determinação da porcentagem de conversão dos AGLs em ésteres – Y (%), como mostrado na Eq. 1 (Alves et al., 2017):

$$Y (\%) = \left( \frac{AGL_0 - AGL_t}{AGL_0} \right) \times 100 \quad (1)$$

Em que:  $AGL_0$  e  $AGL_t$  são respectivamente as concentrações inicial e residual de AGLs no meio reacional (mol/L).

### 3.2.5 Testes de reuso de ET2.0 imobilizada após sucessivas bateladas de reação

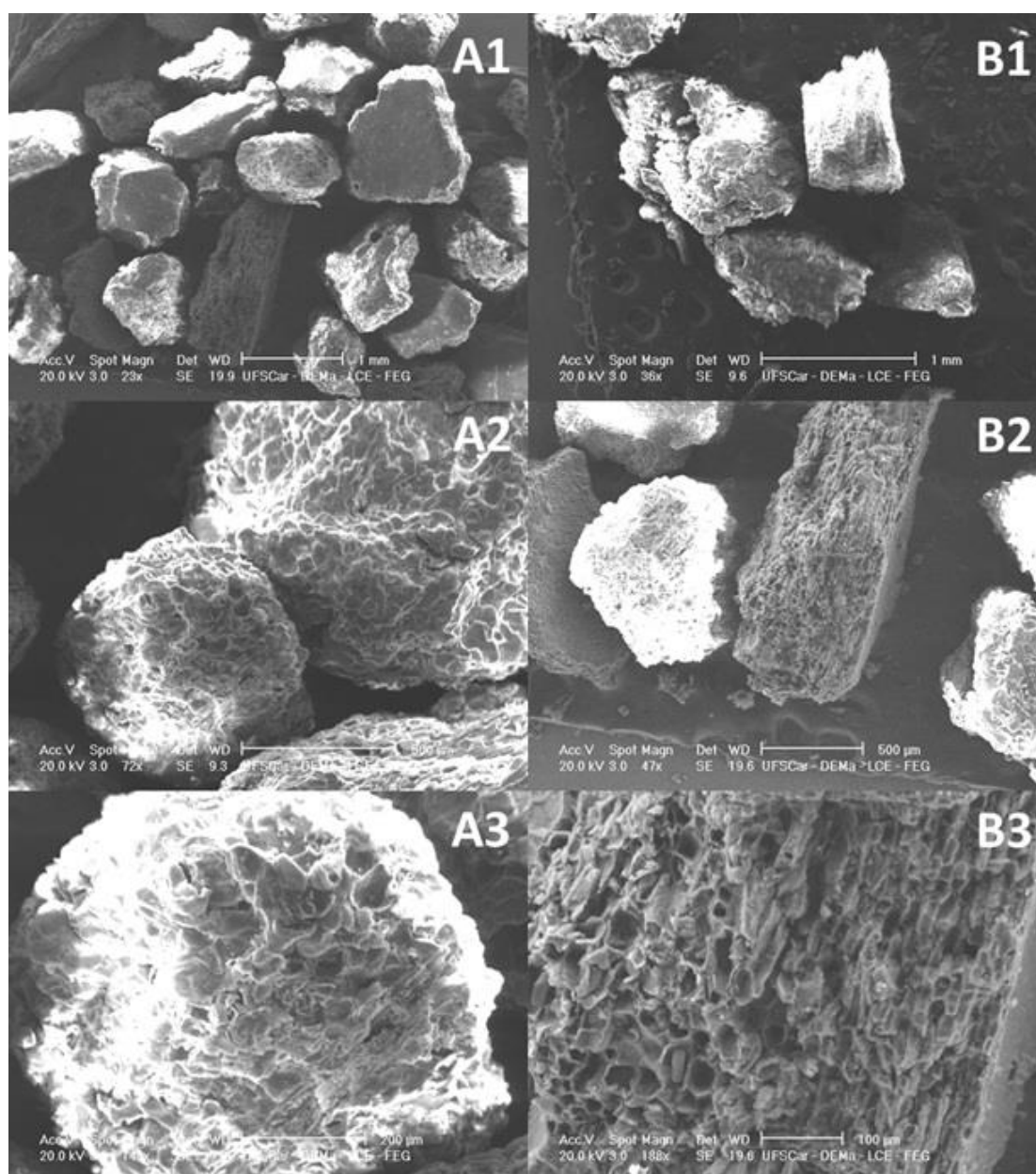
Testes de reuso da lipase ET2.0 imobilizada após consecutivas bateladas de reação de esterificação foram conduzidos nas mesmas condições reacionais reportadas acima. Ao final de cada batelada, a lipase imobilizada foi recuperada por filtração em funil de Buchner e lavada com hexano gelado (4°C) para a remoção de matérias-primas residuais (não convertidas) e/ou produtos retidos no seu microambiente. A lipase imobilizada lavada e recuperada, foi armazenada em recipiente aberto e mantida a 5°C por 24 h para ser reutilizada em nova batelada. Em seguida, a lipase imobilizada foi introduzida em um novo meio, na qual foi determinada a porcentagem de conversão, conforme descrito na Eq. (1), por seis bateladas consecutivas bateladas de reação.

## 3. Resultados e Discussão

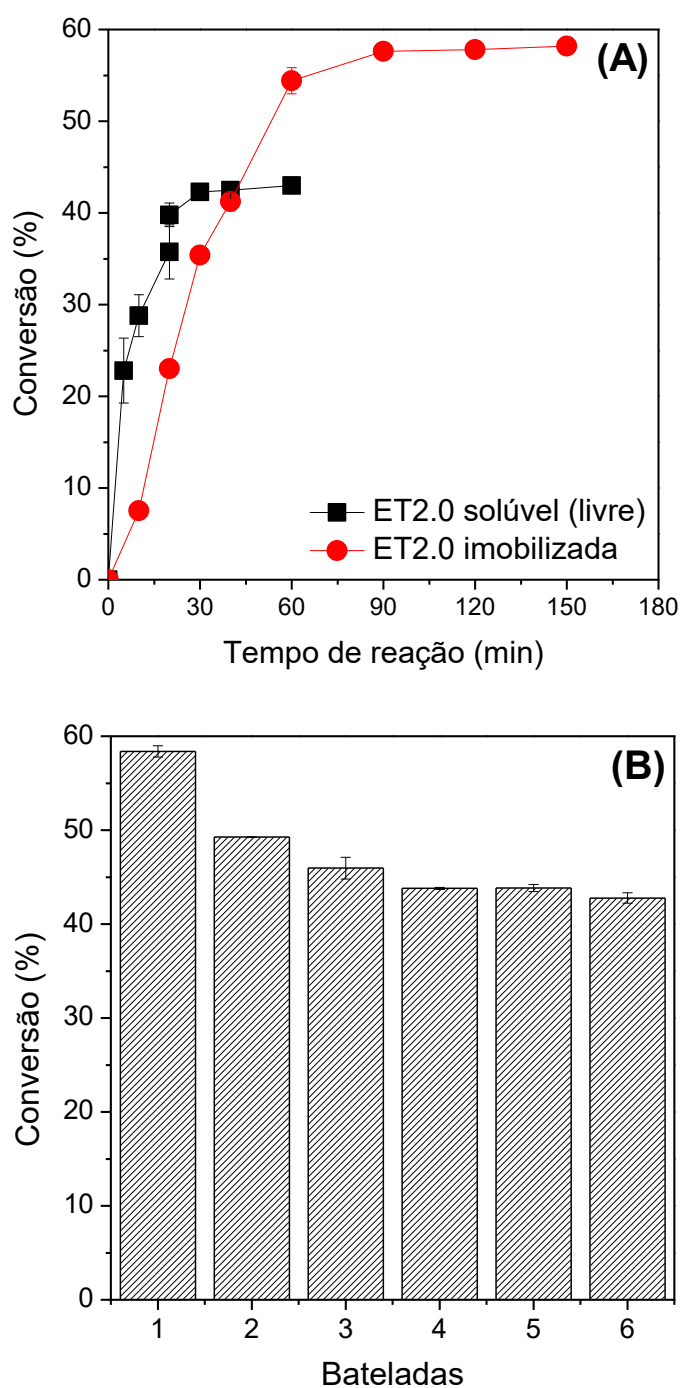
Neste estudo, partículas de epicarpo de macaúba não tratadas foram inicialmente avaliadas como suporte de imobilização de ET2.0. Entretanto, uma máxima concentração de lipase adsorvida, expressa em concentração de proteína, da ordem de 5 mg por grama de suporte foi obtida (cerca de 12,5% da concentração inicial de proteína oferecida – 40 mg por grama de suporte). Esta baixa capacidade

de adsorção de ET2.0 se deve à possível liberação de extrativos existentes na composição do resíduo agroindustrial (epicarpo da macaúba) que resultou em um aumento da turbidez do sistema de imobilização, aumentando a viscosidade que restringiu o acesso de moléculas da enzima ao microambiente do suporte. Dessa forma, etapas de pré-tratamentos eficientes foram adotadas para fornecer um material com melhores características para a imobilização da lipase (Bijoy et al., 2022). Neste estudo, a influência dos métodos de pré-tratamento na morfologia do suporte foi avaliada por MEV e comparada com sua forma não tratada.

As imagens de microscopia das partículas do epicarpo da macaúba não tratada (Figura 2(A1)) e tratada (Figura 2(B1)) apresentam uma estrutura irregular. Estas imagens obtidas para o material não tratado (Figuras 2(A2) e 2(A3)) revelam uma superfície mais lisa e altamente ordenada se comparado com o material pré-tratado (Figuras 2(B2) e 2(B3)). As etapas de pré-tratamento adotadas possibilitaram a formação de uma estrutura mais porosa devido à possível clivagem e/ou remoção parcial de frações de hemicelulose e/ou lignina e extrativos do material, o que pode favorecer o processo de imobilização (melhor difusão de moléculas de lipase à estrutura interna do material obtido). De fato, a adoção do processo de pré-tratamento elevou 5 vezes a sua capacidade de adsorção de ET2.0 ( $25,2 \pm 1,3$  mg de proteína imobilizada por grama de suporte) quando comparada com o suporte não tratado ( $\leq 5$  mg/g). Isto mostra que 62,5% da proteína inicialmente oferecida no processo foi imobilizada no material pré-tratado. Estes resultados mostram que a etapa de pré-tratamento das partículas do epicarpo da macaúba foi de crucial importância para a obtenção de uma lipase imobilizada com alta retenção de proteína.



**Figura 2.** Imagens de microscopia eletrônica de varredura das partículas de epicarpo não tratadas (A1, A2, A3) e pré-tratadas (B1, B2, B3) com diferentes ampliações.



**Figura 3.** Efeito do tempo de reação na produção de ésteres de solketal por esterificação enzimática catalisada por ET2.0 nas formas livre e imobilizada em partículas pré-tratadas do epicarpo da macaúba (A) e testes de reuso de ET2.0 imobilizada após sucessivas bateladas de esterificação em meio isento de solventes (B).

De acordo com a Figura 3(A), perfis lineares de produção dos ésteres podem ser observados para ambos os biocatalisadores testados. Conforme pode ser

observado, a lipase livre (solúvel) apresentou a maior velocidade inicial de reação devido ao rápido acesso dos materiais de partida (solketal e AGLs) aos seus sítios ativos. Por outro lado, a menor velocidade inicial de reação para ET2.0 imobilizada mostra que a difusão interna de moléculas dos materiais de partida nos poros do biocatalisador heterogêneo preparado (lipase imobilizada) foi a etapa controladora da reação. Estes resultados mostram que a lipase ET2.0 foi preferencialmente adsorvida na superfície interna do material pré-tratado, na qual corrobora com as imagens de MEV que mostram claramente a formação de um material mais poroso após o processo de pré-tratamento adotado que favorece a imobilização da enzima na sua superfície interna.

De acordo com os resultados ilustrados na Figura 3(A), a máxima conversão de AGLs da ordem de 58% foi obtida após 90 min de reação catalisada pela lipase imobilizada, enquanto a lipase livre foi de apenas 42,3% após 30 min de reação. Esses resultados confirmam que o processo de imobilização foi fundamental para aumentar o desempenho catalítico de ET2.0 em meio orgânico. Como esperado, a imobilização da lipase melhora a sua dispersão na superfície do suporte preparado que, conseqüentemente, facilita o acesso das moléculas da matéria-prima aos seus sítios ativos, o que é consistente com estudos anteriores (Carvalho et al., 2021; Miguel Júnior et al., 2024).

A estabilidade operacional (testes de reuso) da lipase imobilizada após seis sucessivas bateladas de esterificação foi também avaliada empregando razão molar AGLs:solketal de 1:1,6, contínua agitação orbital de 240 rpm, 60°C e 17% em massa de lipase imobilizada (ou 4,28 mg de proteína imobilizada por grama de mistura reacional) por 90 min de contato. De acordo com a Figura 3(B), a lipase imobilizada apresentou uma ligeira redução do seu desempenho catalítico após as três primeiras bateladas de reação e este valor permaneceu constante até a sexta batelada (valores de conversão de AGLs em torno de 43% após 90 min de reação). Este valor de conversão obtida no sexto reuso corresponde a 74% de sua atividade inicial (conversão de AGLs de 58% na primeira batelada – Figura 3(A)). Esta redução de atividade catalítica após consecutivas bateladas de reação pode ser atribuída à uma possível inativação térmica de algumas moléculas de lipase preferencialmente adsorvidas na superfície externa do suporte, bem como o acúmulo de moléculas de materiais de partida (AGLs e solketal) não convertidos e/ou produtos (ésteres de solketila e moléculas de água) em seu microambiente que podem alterar a estrutura

tridimensional da enzima – efeitos de inibição (Carvalho et al., 2021; Miguel Júnior et al., 2024; Villa et al., 2020).

Os resultados obtidos para este sistema reacional proposto neste estudo é bastante superior àqueles reportados na literatura para a produção enzimática de ésteres de solketila que se caracterizam pelo requerimento de grandes volumes de solventes orgânicos para alcançar elevadas porcentagens de conversões (Boncel et al., 2023; Johny et al., 2019; Mine et al., 2005; Romano et al., 2006; Villa et al., 2020). Além disso, o biocatalisador preparado apresentou melhor retenção de atividade após sucessivas reações comparada com estes estudos. Portanto, estes dados demonstram que a lipase imobilizada no suporte preparado obtido a partir de um material lignocelulósico pode ser interessante na imobilização e estabilização de ET2.0.

#### **4. Conclusão**

Neste estudo, um processo sustentável conduzido na ausência de emulsificantes, agentes tamponantes e solventes orgânicos foi proposto para a síntese de ésteres de solketila, uma importante classe de compostos para a indústria oleoquímica. Estes ésteres foram obtidos a partir de óleo residual (óleo de soja usado em fritura) empregando lipase ET2.0 imobilizada em um suporte proveniente de um resíduo lignocelulósico (partículas pré-tratadas do epicarpo da macaúba). O processo de imobilização adotado mostrou claramente que a lipase imobilizada foi mais ativa e estável que a sua forma solúvel, mostrando a importância de um apropriado processo de imobilização na estabilização da lipase. O desenvolvimento de um processo eficiente e sustentável empregando um óleo residual como matéria-prima e resíduo lignocelulósico como suporte de imobilização de lipase pode ser considerado uma alternativa promissora para o estabelecimento de processos industriais tecnologicamente limpos e seguros.

#### **Agradecimentos**

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001. Os autores também agradecem à Fundação de Amparo à

Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG (Processo APQ–00944–24) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq (Processo 306253/2023–2) pelo suporte financeiro.

### Referências

- Alves, M.D., Aracri, F.M., Cren, É.C., Mendes, A.A., 2017. Isotherm, kinetic, mechanism and thermodynamic studies of adsorption of a microbial lipase on a mesoporous and hydrophobic resin. *Chem. Eng. J.* 311, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.11.069>
- Ampese, L.C., Buller, L.S., Monroy, Y.M., Garcia, M.P., Ramos-Rodriguez, A.R., Forster-Carneiro, T., 2021. Macaúba's world scenario: a bibliometric analysis. *Biomass Convers. Biorefinery* 13, 3329–3347. <https://doi.org/10.1007/S13399-021-01376-2>
- Barbosa, S.L., Lima, P.C., dos Santos, W.T.P., Klein, S.I., Clososki, G.C., Caires, F.J., 2019. Oxygenated biofuels: Synthesis of fatty acid solketal esters with a mixture of sulfonated silica and (Bu<sub>4</sub>N)(BF<sub>4</sub>) catalyst. *Catal. Commun.* 120, 76–79. <https://doi.org/10.1016/J.CATCOM.2018.12.005>
- Bijoy, G., Rajeev, R., Benny, L., Jose, S., Varghese, A., 2022. Enzyme immobilization on biomass-derived carbon materials as a sustainable approach towards environmental applications. *Chemosphere* 307, 135759. <https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.135759>
- Bolina, I.C.A., Gomes, R.A.B., Mendes, A.A., 2021. Biolubricant production from several oleaginous feedstocks using lipases as catalysts: current scenario and future perspectives. *BioEnergy Res.*, 14, 1039–1057. <https://doi.org/10.1007/S12155-020-10242-4>
- Bolivar, J.M., Woodley, J.M., Fernandez-Lafuente, R., 2022. Is enzyme immobilization a mature discipline? Some critical considerations to capitalize on the benefits of immobilization. *Chem. Soc. Rev.* 51, 6251–6290. <https://doi.org/10.1039/d2cs00083k>
- Boncel, S., Zniszczoł, A., Szymańska, K., Mrowiec-Białoń, J., Jarzebski, A., Walczak, K.Z., 2013. Alkaline lipase from *Pseudomonas fluorescens* non-covalently immobilised on pristine versus oxidised multi-wall carbon nanotubes as efficient and recyclable catalytic systems in the synthesis of solketal esters. *Enzyme Microb. Technol.* 53, 263–270. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2013.05.003>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90527-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3)
- Carvalho, W.C.A., Luiz, J.H.H., Fernandez-Lafuente, R., Hirata, D.B., Mendes, A.A., 2021. Eco-friendly production of trimethylolpropane triesters from refined and used soybean

- cooking oils using an immobilized low-cost lipase (Eversa<sup>®</sup> Transform 2.0) as heterogeneous catalyst. *Biomass Bioenergy* 155, 106302. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2021.106302>
- Johny, J., Jatla, A., Eruva, V.K., Misra, S., Kaki, S.S., 2019. Synthesis, characterization and evaluation of 1-monoacylglycerols of unsaturated fatty acids as potential bioactive lipids. *Grasas Aceites* 70, e325–e325.
- Lee, H.N., Jang, H.J., Woo, J.W., 2023. Synthesis and plasticity of cyclic ester compounds using fatty acids. *Appl. Chem. Eng.* 34, 252–257. <https://doi.org/10.14478/ACE.2023.1030>
- Lopes, D.D.C., Steidle Neto, A.J., Mendes, A.A., Pereira, D.T.V., 2013. Economic feasibility of biodiesel production from Macauba in Brazil. *Energy Econ.* 40, 819–824. <https://doi.org/10.1016/j.eneco.2013.10.003>
- Mariam, N.M.D.N.S., Hoong, S.S., Arniza, M.Z., Adnan, S., Ismail, T.N.M.T., Yeong, S.K., Yusop, M.R., 2022. Optimisation of reaction parameters for the synthesis of solketal levulinate as potential biodiesel additive. *J. Oil Palm Res.* 34, 524–534. <https://doi.org/10.21894/JOPR.2021.0052>
- Miguel Júnior, J., Dimas, J.V.B., Barbosa, M.S., Gomes, R.A.B., Carvalho, A.K.F., Soares, C.M.F., Fernandez-Lafuente, R., Mendes, A.A., 2024. Biocatalytic production of solketal esters from used oil utilizing treated macauba epicarp particles as lipase immobilization support: A dual valorization of wastes for sustainable chemistry. *Catalysts*, 14, 693. <https://doi.org/10.3390/catal14100693>
- Mine, Y., Zhang, L., Fukunaga, K., Sugimura, Y., 2005. Enhancement of enzyme activity and enantioselectivity by cyclopentyl methyl ether in the transesterification catalyzed by *Pseudomonas cepacia* lipase co-lyophilized with cyclodextrins. *Biotechnol. Lett.* 27, 383–388. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-1527-1>
- Monteiro, R.R.C., Arana-Peña, S., da Rocha, T.N., Miranda, L.P., Berenguer-Murcia, Á., Tardioli, P.W., dos Santos, J.C.S., Fernandez-Lafuente, R., 2021. Liquid lipase preparations designed for industrial production of biodiesel. Is it really an optimal solution? *Renew. Energy* 164, 1566–1587. <https://doi.org/10.1016/J.RENENE.2020.10.071>
- Neamtu, C., Stepan, E., Plesu, V., Bozga, G., Tuluc, A., 2019. Synthesis and characterization of new solketal alkylesters usable as diesel biobased fuel additives. *Rev. Chim.*, 70, 1167–1172. <https://doi.org/10.37358/RC.19.4.7086>.
- Perosa, A., Moraschini, A., Selva, M., Noè, M., 2016. Synthesis of the fatty esters of solketal and glycerol-formal: Biobased specialty chemicals. *Molecules* 21, 170. <https://doi.org/10.3390/MOLECULES21020170>
- Rodrigues, R.C., Virgen-Ortíz, J.J., dos Santos, J.C.S., Berenguer-Murcia, Á., Alcantara, A.R., Barbosa, O., Ortiz, C., Fernandez-Lafuente, R., 2019. Immobilization of lipases on

- hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions. *Biotechnol. Adv.* 37, 746–770. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.04.003>
- Romano, D., Ferrario, V., Molinari, F., Gardossi, L., Montero, J.M.S., Torre, P., Converti, A., 2006. Kinetic resolution of (R, S)-1,2-O-isopropylidenglycerol by esterification with dry mycelia of moulds. *J. Mol. Catal. B Enzym.* 41, 71–74. <https://doi.org/10.1016/J.MOLCATB.2006.04.009>
- Silva, L.N., Fortes, I.C.P., De Sousa, F.P., Pasa, V.M.D., 2016. Biokerosene and green diesel from macauba oils via catalytic deoxygenation over Pd/C. *Fuel* 164, 329–338. <https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2015.09.081>
- Sousa, R.R., Silva, A.S., Fernandez-Lafuente, R., Ferreira-Leitão, V.S., 2021. Solvent-free esterifications mediated by immobilized lipases: A review from thermodynamic and kinetic perspectives. *Catal. Sci. Technol.* 11, 5696–5711. <https://doi.org/10.1039/D1CY00696G>
- Stergiou, P.Y., Foukis, A., Filippou, M., Koukouritaki, M., Parapouli, M., Theodorou, L.G., Hatziloukas, E., Afendra, A., Pandey, A., Papamichael, E.M., 2013. Advances in lipase-catalyzed esterification reactions. *Biotechnol. Adv.* 31, 1846–1859. <https://doi.org/10.1016/J.BIOTECHADV.2013.08.006>
- Sultanova, R.M., Khusnutdinova, N.S., Borisova, Y.G., Raskildina, G.Z., Meshcheryakova, S.A., Samorodov, A. V., Zloty, S.S., 2023. Selective synthesis of some carboxylic acids esters. *Russ. J. Gen. Chem.* 93, 1–7. <https://doi.org/10.1134/S1070363223010012>
- Villa, R., Alvarez, E., Nieto, S., Donaire, A., Garcia-Verdugo, E., Luis, S. V., Lozano, P., 2020. Chemo-enzymatic production of omega-3 monoacylglycerides using sponge-like ionic liquids and supercritical carbon dioxide. *Green Chem.* 22, 5701–5710. <https://doi.org/10.1039/D0GC02033H>
- Yang, J., Ma, W.J., Li, N., Zhou, J.H., Sun, H.Z., 2014. Synthesis of tung oil monoglyceride. *Adv. Mater. Res.* 941–944, 1021–1025. <https://doi.org/10.4028/WWW.SCIENTIFIC.NET/AMR.941-944.1021>

#### **4 CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Conclui-se que foi possível produzir ésteres de solketila a partir do óleo de fritura por hidroesterificação enzimática utilizando um novo suporte advindo do epicarpo da macaúba, um resíduo agroindustrial. A utilização de óleo residual como matéria-prima, aliada ao uso de biomassa lignocelulósica como suporte para imobilização demonstra elevado potencial de aplicação industrial, configurando-se como uma alternativa promissora para a geração de compostos ambientalmente sustentáveis. Ademais, o presente estudo contribui para o avanço de novas perspectivas de pesquisa sugerindo-se a aplicação dos ésteres de solketila em filmes de PVC, com vistas à realização de futuras análises estruturais e de atividade antimicrobiana. Em suma, o trabalho desenvolvido contribui para o cumprimento da Agenda 2030 e da ODS, que foram propostas pela ONU, e impacta diretamente nas ações de recuperação do meio ambiente.

## REFERÊNCIAS

ANG, Tze-Zhang *et al.* A comprehensive study of renewable energy sources: classifications, challenges and suggestions. **Energy Strategy Reviews**, v. 43, p. 100939, Sep. 2022.

AO, Supongsena; ROKHUM, Samuel Lalthazuala. Recent Advances in the Valorization of Biodiesel By-Product Glycerol to Solketal. **Journal of Chemistry**, v. 2022, n. 1, p. 4938672, May. 2022.

BARRETO, José *et al.* Epoxidation of Residual Soybean Oil and Thermal Characterization of Residual Epoxidized Soybean Oil Crosslinked with Fumaric Acid. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 33, n. 2, p. 1197-1215, Nov. 2024.

BHATIA, Shashi Kant *et al.* Conversion of waste cooking oil into biodiesel using heterogenous catalyst derived from cork biochar. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122872, Dec. 2020.

BIJOY, Geethanjali *et al.* Enzyme immobilization on biomass-derived carbon materials as a sustainable approach towards environmental applications. **Chemosphere**, v. 307, n. Pt 1, p. 135759, Nov. 2022.

BUSINESS RESEARCH INSIGHTS. **Used cooking oil (UCO) market report 2025–2035**. 2025. Disponível em: <<https://www.businessresearchinsights.com/market-reports/used-cooking-oil-uco-market-117584>>. Acesso em: 6 nov. 2025.

CARVALHO, Wagner CA *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 and Bioenergy**, v. 155, p. 106302, Dec. 2021.

CAVALCANTE, F. T. T. *et al.* Opportunities for improving biodiesel production via lipase catalysis. **Fuel**, v. 288, n. 119577, p 1-20, Nov. 2021.

CHANDRA, Prem *et al.* Microbial lipases and their industrial applications: a comprehensive review. **Microbial cell factories**, v. 19, p. 1-42, Aug. 2020.

CHANGMAI, Bishwajit *et al.* Widely used catalysts in biodiesel production: a review. **RSC advances**, v. 10, n. 68, p. 41625-41679, Oct. 2020.

CHOWDHURY, Avisha; MITRA, Debarati; BISWAS, Dipa. Biolubricant synthesis from waste cooking oil via enzymatic hydrolysis followed by chemical esterification. **Journal**

of **Chemical Technology & Biotechnology**, v. 88, n. 1, p. 139-144, Sep. 2013.

COIMBRA, Michelle Cardoso; JORGE, Neuza. Proximate composition of guariroba (*Syagrus oleracea*), jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) and macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruits. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2139-2142, Aug. 2011.

CORICI, Livia *et al.* Large scale applications of immobilized enzymes call for sustainable and inexpensive solutions: rice husks as renewable alternatives to fossil-based organic resins. **RSC advances**, v. 6, n. 68, p. 63256-63270, Jun. 2016.

CORRÊA, Isabella; FARIA, Rui P. V.; RODRIGUES, Alírio E. Continuous valorization of glycerol into solketal: recent advances on catalysts, processes, and industrial perspectives. **Sustainable Chemistry**, v. 2, n. 2, p. 286–324, Apr. 2021.

CUI, Xiaobin *et al.* Preparation and application of sustainable nanofluid lubricant from waste soybean oil and waste serpentine for green intermittent machining process. **Journal of Manufacturing Processes**, v. 77, p. 508-524, May. 2022.

DA COSTA LIMA PIRES, Pâmela *et al.* Strategies to improve the competitiveness of an agroindustrial system for a macauba based oil production in Minas Gerais State, Brazil. **Land Use Policy**, v. 126, Mar. 2023.

DE FEO, Giovanni *et al.* Assessment of three recycling pathways for waste cooking oil as feedstock in the production of biodiesel, biolubricant, and biosurfactant: a multi-criteria decision analysis approach. **Recycling**, v. 8, n. 4, p. 64, Aug. 2023.

DEL RÍO, José C. *et al.* Chemical composition and thermal behavior of the pulp and kernel oils from macauba palm (*Acrocomia aculeata*) fruit. **Industrial crops and products**, v. 84, p. 294–304, Jun. 2016.

EVARISTO, Anderson Barbosa *et al.* Actual and putative potentials of macauba palm as feedstock for solid biofuel production from residues. **Biomass & bioenergy**, v. 85, p. 18–24, Feb. 2016.

FAZAL, M. A.; HASEEB, A. S. M. A.; MASJUKI, H. H. Biodiesel feasibility study: An evaluation of material compatibility; performance; emission and engine durability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 2, p. 1314–1324, Feb. 2011.

GAUR, Vivek K. *et al.* Production of biosurfactants from agro-industrial waste and waste cooking oil in a circular bioeconomy: An overview. **Bioresource technology**, v.

343, n. 126059, p. 126059, Jan. 2022.

GIOIELLI, Luiz Antonio *et al.* Enzymatic hydrolysis of oils and fats. **Rivista Italiana delle Sostanze Grasse (Italy)**, v. 72, n. 3, 1995.

GIRELLI, Anna Maria; CHIAPPINI, Viviana. Renewable, sustainable, and natural lignocellulosic carriers for lipase immobilization: A review. **Journal of Biotechnology**, v. 365, p. 29-47, Mar. 2023.

GUIMARÃES, José Renato *et al.* A review of lipase immobilization on hydrophobic supports incorporating systematic mapping principles. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 8, n. 11, p. 2689-2702, Sep. 2023.

ISMAIL, Abdallah R.; BAEK, Kwang-Hyun. Lipase immobilization with support materials, preparation techniques, and applications: Present and future aspects. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 163, p. 1624-1639, Nov. 2020.

JOSHI, J. R.; BHANDERI, K. K.; PATEL, J. V. Waste cooking oil as a promising source for bio lubricants- A review. **Journal of the Indian Chemical Society**, v. 100, n. 1, p. 100820, Jan. 2023.

KUANG, Geling *et al.* Silica@ lipase hybrid biocatalysts with superior activity by mimetic biomineralization in oil/water two-phase system for hydrolysis of soybean oil. **Lwt**, v. 160, p. 113333, Apr. 2022.

MANOEL, Evelin A. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports involves the open form of the enzyme. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 71, p. 53-57, Apr. 2015.

MARIAM, Nmd Nik Siti *et al.* Optimisation of reaction parameters for the synthesis of solketal levulinate as potential biodiesel additive. **J. Oil Palm Res**, v. 34, n. 3, p. 524-34, Oct. 2022.

MENDOZA-ORTIZ, Patricia A. *et al.* Sustainable enzymatic synthesis of a solketal ester—process optimization and evaluation of its antimicrobial activity. **Catalysts**, v. 10, n. 2, Feb. 2020.

MIGUEL JÚNIOR, José *et al.* Biocatalytic production of solketal esters from used oil utilizing treated macauba epicarp particles as lipase immobilization support: A dual valorization of wastes for sustainable chemistry. **Catalysts (Basel, Switzerland)**, v. 14, n. 10, p. 693, Oct. 2024.

MIGUEL JÚNIOR, José *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**, v. 12, n. 11, p. 1412, Nov. 2022.

NANDA, Malaya R. *et al.* Catalytic conversion of glycerol for sustainable production of solketal as a fuel additive: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 56, p. 1022-1031, Apr. 2016.

PARANDI, Ehsan *et al.* Biodiesel production from waste cooking oil using a novel biocatalyst of lipase enzyme immobilized magnetic nanocomposite. *Fuel*, v. 313, p. 123057, Apr. 2022.

RAFIEE, Fatemeh; REZAEI, Malahat. Diferentes estratégias para a imobilização de lipase em suportes à base de quitosana e suas aplicações. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 179, p. 170-195, May. 2021.

RENCORET, Jorge *et al.* Variability in lignin composition and structure in cell walls of different parts of macaúba (*Acrocomia aculeata*) palm fruit. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 66, n. 1, p. 138–153, Dec. 2018.

RODRIGUES, Rafael C. *et al.* Immobilization of lipases on hydrophobic supports: immobilization mechanism, advantages, problems, and solutions. **Biotechnology Advances**, v. 37, n. 5, p. 746–770, Sept. 2019.

ROSSET, D. V. *et al.* Enzyme-Catalyzed Production of fame by hydroesterification of soybean oil using the novel soluble lipase NS 40116. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.188, p. 914–926, Jan. 2019.

SABI, Guilherme 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**, v. 157, p. 110019, Jun. 2022.

SANKARANARAYANAN, Sivashunmugam; JINDAPON, Wayu; NGAMCHARUSSRIVICHAI, Chawalit. Valorization of biodiesel plant-derived products via preparation of solketal fatty esters over calcium-rich natural materials derived oxides. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 81, p. 57-64, Dec. 2017.

SATYARTHI, J. K.; SRINIVAS, D.; RATNASAMY, PJACAG. Hydrolysis of vegetable oils and fats to fatty acids over solid acid catalysts. **Applied Catalysis A: General**, v. 391, n. 1-2, p. 427-435, Jan. 2011.

SCHRECK, Steven D.; GRUNDEN, Amy M. Biotechnological applications of halophilic

lipases and thioesterases. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 98, n. 3, p. 1011-1021, Feb. 2014.

SÉVERAC, Etienne *et al.* Selection of CalB immobilization method to be used in continuous oil transesterification: Analysis of the economical impact. **Enzyme and microbial technology**, v. 48, n. 1, p. 61-70, Jan. 2011.

SOUZA, José E.S. *et al.* Sonohydrolysis using an enzymatic cocktail in the preparation of free fatty acid. **3 Biotech**, v. 10, n. 6, p. 1–10, May 2020.

ZAHID, Imtisal *et al.* Production of fuel additive solketal via catalytic conversion of biodiesel-derived glycerol. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 59, n. 48, p. 20961–20978, Nov. 2020.

ZENEVICZ, Mara Cristina P. *et al.* Enzymatic hydrolysis of soybean and waste cooking oils under ultrasound system. **Industrial Crops and Products**, v. 80, p. 235-241, Feb. 2016.

ZIENIUŁ, Bartłomiej *et al.* Agri-Food and Food Waste Lignocellulosic Materials for Lipase Immobilization as a Sustainable Source of Enzyme Support—A Comparative Study. **Foods**, v. 13, n. 23, p. 3759, Nov. 2024.