PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL DE BIODIESEL VIA HIDROESTERIFICAÇÃO A PARTIR DO ÓLEO DE COZINHA USADO

Leonardo Alves Miguel[1], Michelle Chmouri Murakami [2], Mateus P. F. Santos[3], Cristiane M. Veloso[4], Daniela Battaglia Hirata[5]

[1]Universidade Federal de Alfenas, Mestrado em Ciências Ambientais, Alfenas, Brasil (leonardo.miguel@sou.unifal-mg.edu.br)

[2]Universidade Federal de Alfenas, Curso de Biotecnologia, Alfenas, Brasil (michelle.murakami@sou.unifal-mg.edu.br)

3Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga BA, Brasil (mateuspflores@outlook.com.br)

4Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia (UESB), Itapetinga BA, Brasil (crisvel@uesb.edu.br)

[5]Universidade Federal de Alfenas, Programa de Pós-graduação em Ciências Ambientais Alfenas, Brasil (daniela.hirata@sou.unifal-mg.edu.br)

Resumo: Este trabalho otimizou a produção de biodiesel via hidroesterificação de óleo de cozinha usado, utilizando a enzima eversa® transform 2.0 imobilizada em carvão nanomagnético. Por meio de um DCCR, no qual foram avaliados o efeito da concentração do derivado e da razão molar AGL/etanol. O modelo apresentou um R^2 de 87,39% e a maior conversão obtida foi de 67,63% em 3h de reação, empregando-se 10% de derivado e razão de 1:1,5 (ácidos graxos livres:etanol).

Palavras-chave: Hidroesterificação, Biodiesel, Suporte sustentável

INTRODUÇÃO

A urgência por fontes de energia renováveis é evidenciada pelo cenário de escassez dos combustíveis fósseis e pelo impacto ambiental de suas emissões na atmosfera (Usmani et al., 2023). O uso intensivo de combustíveis não renováveis não apenas ameaça à segurança energética devido ao seu caráter finito, mas também é o principal vetor do aquecimento global e da piora na qualidade do ar via emissões de CO_2 (Aguilar-Aguilar et al., 2025).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que a poluição atmosférica é uma das principais causas de mortalidade, contribuindo para mais de 4,2 milhões de mortes em todo o mundo a cada ano, com 91% da população global residindo em áreas que excedem as diretrizes de qualidade do ar (Naseef et al., 2025). Assim, a busca por combustíveis alternativos e tecnologias limpas deixa de ser uma opção e torna-se uma prioridade para diminuir os riscos à saúde pública e ao equilíbrio do ecossistema global.

Para atender a essa demanda urgente e diminuir o impacto ambiental associado aos derivados de petróleo, o biodiesel tem despontado como uma alternativa renovável altamente atrativa. No entanto, a produção convencional deste biocombustível, baseada principalmente na catálise química, apresenta limitações significativas, como por exemplo a utilização de óleos que não sejam refinados (Gisaw et al., 2025)

Historicamente, as origens do biodiesel remontam à crise energética da década de 1970, um período que impulsionou a busca por alternativas ao petróleo e alavancou a pesquisa na área, a qual vem crescendo progressivamente.

A produção industrial evoluiu a partir da década de 1980, baseando-se nas experiências pioneiras de Rudolf Diesel com óleos vegetais, tendo um crescimento de produção cada vez maior nos dias atuais (Naseef et al., 2025) (Fig. 1).

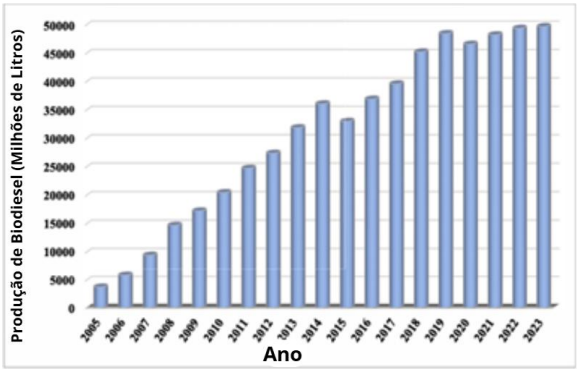


Figura 1. Produção de Biodiesel mundial de 2005 até 2023 (Adaptado de Naseef et al., 2025).

A reação mais empregada no Brasil para a produção de biodiesel é a rota de transesterificação com catalisador químico alcalina, que tem como objetivo transformar triglicerídeos em ésteres metílicos (FAME). Contudo essa via introduziu novos gargalos técnicos em sua produção. A via química convencional tem necessidade do uso de catalisadores alcalinos em sua reação, que reduzem o rendimento da reação, exigindo assim um processo de purificação (Gisaw et al., 2025).

Uma outra forma de produção de biodiesel é através da reação de hidroesterificação, ela permite a utilização de matérias-primas como óleos residuais ou não purificados, que possuam altos índices de acidez e umidade. Nessa rota de produção de biodiesel está envolvida uma etapa de hidrólise seguida de uma etapa de esterificação, obtendo um produto final mais puro (Naseef et al., 2025).

Além da reação de hidroesterificação, a catálise enzimática surge como uma alternativa promissora à rota química convencional por operar sob condições brandas, maximizar a eficiência e diminuir os impactos ambientais associados aos processos tradicionais (Xiao et al., 2025). A imobilização enzimática, permite que a catálise enzimática funcione de forma mais eficiente, uma vez que supera as limitações inerentes a utilização das enzimas em sua forma livre que frequentemente sofrem com baixa estabilidade, principalmente pela porcentagem de álcool presente na reação e dificuldades de recuperação, ao conferir rigidez estrutural às proteínas, reduzindo o desenovelamento e melhorando a tolerância a faixas mais amplas de pH e temperatura.

A imobilização em suportes macroporosos como, por exemplo o carvão proveniente da casca de café como suporte (Santos et al., 2020) e as modificações superficiais poliméricas têm otimizado o desempenho catalítico e a transferência de massa. Essa abordagem de biocatálise heterogênea permite uma fácil separação de fases e a recuperação contínua do catalisador ao longo de múltiplos ciclos reacionais, reduzindo drasticamente a complexidade do processamento posterior e consolidando a viabilidade econômica do processo (Rosas et al., 2026). A utilização de suportes sustentáveis chama atenção, uma vez que permite reutilizar resíduos da indústria, favorecendo assim a economia circular. (Santos et al., 2020).

Para que aconteça uma correta imobilização, alguns parâmetros devem ser analisados. A limitação de difusão do substrato, de forma que o suporte deve ter uma superfície que permita que o substrato se difunda para dentro dos seus poros antes que as enzimas o consomem. Além disso, é necessário a utilização de uma baixa força iônica durante a imobilização, uma vez que as lipases possuem um mecanismo de adsorção seletiva onde, sob condições de baixa força iônica, apenas as lipases conseguem se abrir e se fixar firmemente a suportes hidrofóbicos, pois a força que impulsiona essa abertura e fixação é a própria afinidade natural da região interna da "tampa" da lipase com o suporte (Boudrant et al., 2020).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar as melhores condições de produção de Biodiesel através da reação de hidroesterificação por meio de um delineamento composto central rotacional completo (DCCR), avaliando as variáveis de concentração de um suporte sustentável carregado pela enzima eversa®transform 2.0 e razão molar de ácido graxo e Etanol.

MATERIAL E MÉTODOS

A execução do presente trabalho foi realizada na Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG) no Laboratório de Bioprocessos (BioPro).

O carvão utilizado na síntese do suporte foi obtido e tratado de acordo com (Santos et al., 2020). A magnetização do carvão com partículas de ferro foi realizada segundo a metodologia adaptada de (Oliveira et al., 2022).

Para imobilização das lipases, 1 g de suporte foi colocado junto a uma solução enzimática de 50 mg de eversa®transform 2.0 utilizando tampão fosfato de sódio pH 7 de baixa carga iônica (5 mM) Boudrant et al. (2020). A imobilização foi realizada em shaker orbital a 190 rpm e a temperatura ambiente (25°C) durante 17 horas de acordo com Ferreira et al. (2018). Após a imobilização o derivado foi recuperado, lavado com tampão pH 7 e armazenado a 4°C para uso posterior. Os parâmetros de imobilização foram determinados de acordo com Ferreira et al. (2018).

A influência de diferentes razões molares entre ácidos graxos livres (AGL) e etanol (1:1, 1:1,5, 1:2,5, 1:3;5 e 1:4 mol/mol) em um meio reacional contendo n-hexano foi avaliada mantendo-se a concentração do biocatalisador em 10% m/v do meio reacional. Amostras foram coletadas ao longo de 3 h de reação e o percentual de conversão em éster foi analisada segundo Costa et al., (2019).

O efeito da concentração do biocatalisador na reação de esterificação foi avaliado variando-a de 4 a 11% (m/m do meio reacional), utilizando n-hexano no meio reacional. Amostras foram coletadas após 3 h de reação e o percentual de conversão em éster foi analisada segundo Costa et al., (2019).

A quantificação de proteínas foi realizada através do método de Bradford (1976) utilizando a proteína albumina sérica bovina (BSA) como padrão.

A atividade da enzima foi determinada através do método de emulsão do azeite de oliva adaptado, descrito previamente por Ferreira et al., (2018).

Um delineamento composto central rotacional (DCCR) foi utilizado para se avaliar os efeitos da concentração de derivado (% m/m) (x_1) e da razão molar (AGL/etanol) (x_2) na reação de esterificação do biodiesel (Tabela 1).

O DCCR com quatro pontos fatoriais (ensaios 1, 2, 3 e 4), quatro pontos axiais (ensaios 5, 6, 7 e 8) e três repetições no ponto central (ensaios 9, 10 e 11) está descrito na Tabela 2. As três repetições no ponto central permitem o cálculo do erro experimental e são essenciais para avaliar a reprodutibilidade do processo. A análise dos dados foi conduzida utilizando o *software* Protimiza Experimental Design Os dados experimentais foram ajustados a um modelo de segunda ordem (Eq. 1)

Tabela 1. Delineamento experimental.

Variável	-1,41	-1	0	1	1,41
Concentração de Derivado (% m/m) (x1)	4	5	7,5	10	11
Razão Molar (AGL/Álcool) (x2)	1:1	1:1,5	1:2,5	1:3,5	1:4

$$Y=\beta_0+\beta_1x_1+\beta_2x_2+\beta_{12}x_1x_2+\beta_{11}x^2_1+\beta_{22}x^2_2 \quad (1)$$

Onde Y é a resposta predita (Conversão %), x_1 e x_2 são as variáveis independentes codificadas (Concentração de Derivado e Razão Molar AGL/álcool, respectivamente), e "β_0", "β_1", "β_2", "β_{12}", "β_{11}" e "β_{22}" são os parâmetros do modelo de regressão, os quais são estimados utilizando o método dos mínimos quadrados.

O modelo polinomial gerado expressa o comportamento da reação de acordo com a variação de derivado e da razão molar entre os ácidos graxos livres (AGL) e o álcool. A análise de variância (ANOVA) foi realizada verificação do modelo gerado para um nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos ensaios do delineamento experimental estão descritos na Tabela 2. Esta metodologia permitiu otimizar a reação de esterificação, promovendo uma maior conversão, proporcionando assim verificar a melhor condição de reação com um número mínimo de experimentos. A equação obtida está descrita na (Eq.2).

A maior conversão obtida foi de 67,63%, no ensaio 2, no qual foi utilizado 10% de derivado e razão molar de 1:1,5 (AGL: etanol).

Tabela 2. Conversão da esterificação para o DCCR.

Ensaio	Concentração de Derivado (% m/m) (x1)	Razão Molar (AGL/Álcool) (x2)	Conversão (%)
1	5(-1)	1:1,5(-1)	25,00
2	10(1)	1:1,5(-1)	67,63
3	5(-1)	1:3,5(1)	40,35
4	10(1)	1:3,5(1)	53,64
5	4(-1,41)	1:2,5(0)	28,72
6	11(1,41)	1:2,5(0)	59,55
7	7,5(0)	1:1(-1,41)	21,13
8	7,5(0)	1:4(1,41)	41,70
9	7,5(0)	1:2,5(0)	33,10
10	7,5(0)	1:2,5(0)	34,00
11	7,5(0)	1:2,5(0)	33,67

$$Y=33,59+12,44x_1+3,81x_2+7,33x_1x_2+7,49x^2_1+1,13x^2_2 \quad (2)$$

A análise de variância (Tabela 3) mostrou que o modelo completo obtido para a conversão é adequado para ser utilizado na construção da superfície de contorno e da curva de superfície, ao nível de significância de 5%, apresentando um coeficiente de determinação (R^2) de 0,874. O valor baixo obtido para o erro puro (0,4), mostrou que os ensaios apresentaram uma boa reprodutibilidade, e que a reação de esterificação está sob controle.

Na tabela de efeitos (Tabela 4) foi possível observar que a variável x_1 foi é estaticamente significativa na produção de biodiesel. Como o efeito foi positivo (24,88), significa que ao se aumentar o nível de x_1 houve um aumento na conversão de biodiesel, para as a reação estudada. Assim, quanto maior a quantidade de derivado, maior será a conversão esperada.

A literatura reporta que um aumento na razão molar do álcool, geralmente, diminui a porcentagem de conversão de biodiesel, possivelmente por promover uma retirada de água do derivado, e consequentemente levar a uma rigidificação do sítio ativo da lipase imobilizada (Mohadese et al., 2015). Entretanto, no presente trabalho, a variável x_2 não foi significativa, não exercendo assim influência sobre a conversão para os ensaios realizados.

O gráfico de Pareto (Figura 2) confirmou que apenas o efeito linear do fator x_1 ultrapassaram a linha de significância estatística, indicando que x_1 foi a única variável estatisticamente significativa para as condições de reação estudada.

O gráfico de valores preditos versus valores experimentais para a conversão de biodiesel (Figura 3) apresentou uma boa distribuição dos dados experimentais, demonstrando que o modelo matemático completo obtido foi adequado, possuindo uma boa capacidade para descrever de maneira satisfatória o comportamento da reação de esterificação na faixa experimental estudada, sem indícios de desvios sistemáticos ou erros discrepantes.

Tabela 3. Análise de Variância (ANOVA).

Fonte de Variação	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	Fcalc	p-Valor
Regressão	1893,3	5	378,7	6,9	0,02664
Resíduos	273,2	5	54,6		
Falta de Ajuste	272,8	3	90,9	438,7	0,00228
Erro puro	0,4	2	0,2		
Total	2166,5	10			

Tabela 4. Efeitos para o DCCR.

Nome	Efeitos	Erro padrão	t-calculado	p-Valor
Média	33,59	4,27	7,87	0,0005
x_1	24,88	2,61	4,76	0,0051
x_1^2	14,98	3,11	2,41	0,0610
x_2	7,62	2,61	1,46	0,2051
x_2^2	2,26	3,11	0,36	0,7307
$x_1.x_2$	-14,66	3,70	-1,98	0,1040

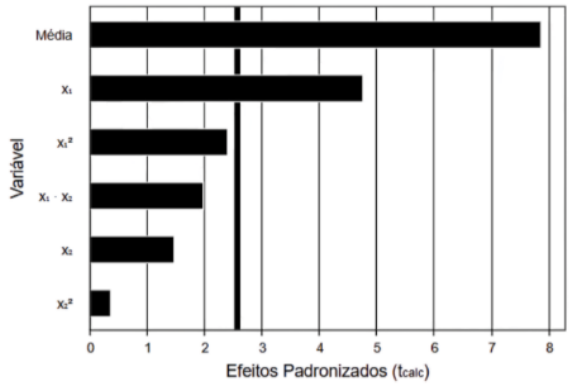


Figura 2. Gráfico de Pareto.

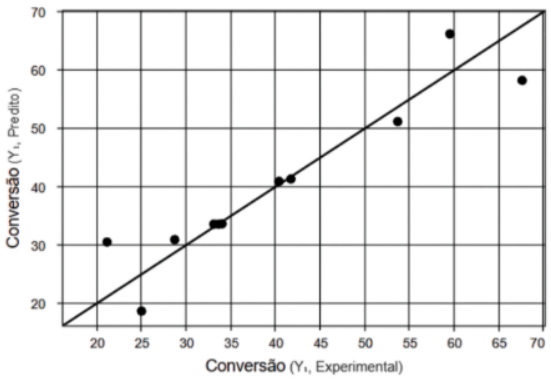


Figura 3. Gráfico de ajuste.

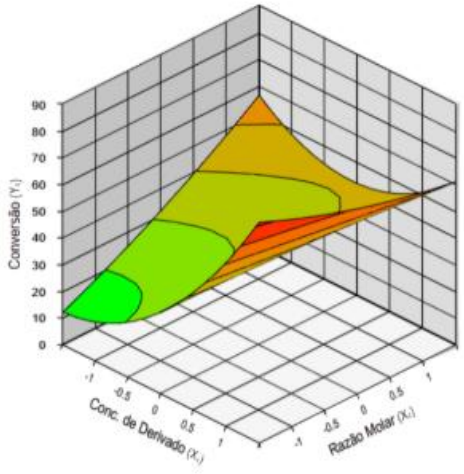


Figura 4. Superfície resposta.

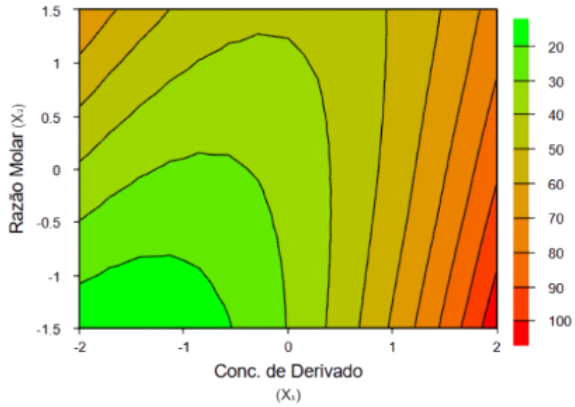


Figura 5. Curva de contorno.

A superfície resposta (Figura 4) e a curva de contorno (Figura 5) geradas a partir do modelo completo, permitiram verificar que a faixa de maior conversão se encontra na região na qual uma maior concentração de derivado e uma menor razão entre AGL e etanol foi utilizada. Dessa forma, a razão molar na faixa operacional avaliada, permitiu a fixação desta variável

em seu nível inferior para fins de otimização econômica do processo. A validação do modelo gerado na condição do ensaio 2, com o aumento do tempo de reação será realizada futuramente, para este trabalho, visando aumentar a porcentagem de biodiesel obtida pela reação de esterificação.

CONCLUSÃO

A otimização da reação de hidroesterificação para a produção de biodiesel, catalisada pela eversa@transform 2.0, imobilizada em um carvão magnetizado, foi realizada com sucesso. A concentração de derivado (x_1) foi a única variável com efeito linear estatisticamente significativo para a reação (p=0,0051), a 5% de significância, com um efeito positivo, ou seja, um aumento na concentração de derivado favoreceu a reação de esterificação para a produção de biodiesel.

O modelo matemático completo foi validado pela ANOVA, mostrando-se adequado para descrever os dados obtidos, sendo capaz de explicar 87,4% da variabilidade dos dados de conversão (R^2 = 0,874). A análise da superfície de resposta permitiu estabelecer a condição ótima de operação, tendo no limite superior da concentração de derivado a região na qual se atingem as maiores porcentagens para a síntese do biocombustível, após 3 h de reação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais - FAPEMIG (APQ-00404-23), a CAPES pela bolsa de Mestrado do discente Leonardo Alves Miguel e a UNIFAL- MG pelo apoio para a realização do presente trabalho. Os autores agradecem aos professores Ernandes Benedito Pereira da UNIFAL-MG e Paulo Waldir Tardiorli da UFSCar, pela doação das enzimas utilizadas neste trabalho.

REFERÊNCIAS

AGUILAR-AGUILAR F.A., Mena-Cervantes VY, Hernandez-Altamirano R. Analysis of public policies and resources for biodiesel production in México. **Biomass and Bioenergy**, v. 196, n. 107762. 2025.

OURO PRETO, A. *et al.* Sustainable Biodiesel Production Through Waste Cooking Oil Hydrosterification. **Catalysis Letters**. v. 155. n. 10.1007. 2025.

BOUDRANT, J. *et al.* Parameters necessary to define an immobilized enzyme preparation. **Process Biochemistry,** v. 90 pg. 66-80. 2020.

BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, n. 1-2, p. 248-254, May 1976.

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

CHEN, F. F. *et al.* Preparation of magnetic molecularly imprinted polymer for selective recognition of resveratrol in wine. **Journal of Chromatography A**, v. 1300, p. 112–118, 2013.

COSTA, M. J *et al.* Enzymatic biodiesel production by hydroesterification using waste cooking oil as feedstock. Chemical Engineering & Processing: **Process Intensification**, v. 157, n. 108131, p.1-9, Sep. 2020.

FERREIRA, M. M. *et al.* Different strategies to immobilize lipase from *Geotrichum candidum:* Kinetic and thermodynamic studies. **Process Biochemistry**, v. 67, p. 55-63, Apr. 2018.

GISAW, D. G. *et al.* Potential oil sources, conversion routes and process limiting factors for sustainable biodiesel production – A comprehensive outlook. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 177 n. 106240, 2025.

MOHADESE, B. *et al.* Effect of water, organic solvent and adsorbent contents on production of biodiesel fuel from canola oil catalysed by various lipases immobilized on epoxy-functionalized silica as low cost biocatalyst. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic,** v.120 p. 93-99. 2015

NASEEF, H. H. *et al.* Transesterification and esterification for biodiesel production: A comprehensive review of catalysts and palm oil feedstocks. **Energy Conversion and Management: X**, v. 26, n. 100931, 2025

OLIVEIRA, T.P. et al. Incorporation of metallic particles in activated carbon used in lipase immobilization for production of isoamyl acetate. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v.97, p.1736–1746, Oct. 2022.

ROSAS-VEGA, F. E. *et al.* Integrated enzymatic processes for next-generation biodiesel production. **Next Sustainability,** v. 7 n. 100320, 2026.

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.

SANTOS, M.P.F.; et al. New insight about the relationship between the main characteristics of precursor materials and activated carbon properties using multivariate analysis. **The Canadian Journal of Chemical Engineering**. v.98, p. 1501–1511. Jan. 2020.

USMANI, R.A. *et al.* Biofuel consumption and global climate change: solutions and challenges. **Environmental sustainability of biofuels**. Elsevier. p. 183–200. 2023.

XIAO Dunchi, Li Xun, Zhang Yu, Wang Fei. Biodiesel production from soybean oil using a free-enzyme and whole-cell dual lipase system as a biocatalyst. Appl. **Biochem. Biotechnol.**, p. 2163–2167.2025.