



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

Faculdade de Engenharia e Ciências - Câmpus de Rosana

**DIOGO PALERMO GONÇALVES**

**Otimização da transesterificação enzimática do óleo de macaúba assistida por ultrassom**

Rosana - SP  
2022

**Diogo Palermo Gonçalves**

**Otimização da transesterificação enzimática do óleo de macaúba assistida por ultrassom**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à Coordenadoria de Curso de Engenharia de Energia da Faculdade de Engenharia e Ciências do Campus de Rosana, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia de Energia.

Orientadora: Dra. Andréia Fátima Zanette

G635o

Gonçalves, Diogo Palermo

Otimização da transesterificação enzimática do óleo de macaúba assistida por ultrassom / Diogo Palermo

Gonçalves. -- Rosana, 2022

53 p. : tabs., fotos

Trabalho de conclusão de curso (Bacharelado Engenharia de Energia) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Engenharia e Ciências, Rosana  
Orientadora: Andréia Fátima Zanette

1. Biodiesel. 2. Catálise enzimática. 3. Óleo da amêndoa de macaúba. 4. Ultrassom. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Engenharia e Ciências, Rosana. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**DIOGO PALERMO GONÇALVES**

ESTE TRABALHO DE GRADUAÇÃO FOI JULGADO ADEQUADO COMO  
PARTE DO REQUISITO PARA A OBTENÇÃO DO DIPLOMA DE  
"GRADUADO EM ENGENHARIA DE ENERGIA"

APROVADO EM SUA FORMA FINAL PELO CONSELHO DE CURSO DE  
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE ENERGIA

Prof. Dr. José Francisco Resende da Silva  
Coordenador

**BANCA EXAMINADORA:**

Profa. Dra. Andréia de Fátima Zanette  
Orientadora/UNESP-Rosana

Profa. Dra. Claudia Gonçalves de Azevedo  
UNESP-Rosana

Profa. Dra. Marcela Prado Silva Parizi  
UNESP-Rosana

Fevereiro de 2022

## **Dedicatória**

Aos meus pais, por me oferecerem tudo que sempre sonharam em ter.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, à minha família. Mãe, Pai, Beatriz e Eduardo, obrigado pelo suporte, e por acreditarem em mim. Obrigado pela oportunidade de me tornar o primeiro engenheiro da família.

Aos meus amigos e companheiros da república ZauBar. Em especial ao Feijão, Felipe, Roça e Quarta-feira, agradeço pela parceria que construímos e histórias que só nós sabemos. Ohana.

Às incontáveis conexões e amizades construídas durante esse processo. Obrigado, Rosana.

À Carolina Maia e a Jhulia Maria, obrigado pela amizade e parceria. Tenho certeza que assim como pessoas, vocês também serão engenheiras espetaculares.

À minha orientadora e professora Andréia Fátima Zanette, que aceitou me orientar desde o desenvolvimento da primeira iniciação científica, até o trabalho de conclusão de curso. Agradeço a disponibilidade, as dicas, os ensinamentos e a parceria compartilhada ao longo desses anos.

À toda UNESP, em especial ao campus experimental de Rosana. Sua impecável gestão, estrutura, organização e profissionais de todos os segmentos que merecem reconhecimento.

Ao laboratório da Faculdade de Ciências e Tecnologia (FCT) da UNESP, no departamento de Química, no Campus de Presidente Prudente, pela disposição para ajudar nas análises cromatográficas.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) pela doação do subsídio principal desta pesquisa, o óleo de amêndoa de macaúba.

Por fim, e não menos importante, gostaria de agradecer a mim. Agradeço por ter aceitado esse desafio. Agradeço por todos os erros que me fizeram acertar. Agradeço por ter vivido. Agradeço por estar vivo.

“O universo não tem obrigação de fazer  
sentido para você”

– Neil deGrasse Tyson

## RESUMO

Diante do atual cenário, um dos pilares fundamentais para degradação ambiental é a utilização excessiva dos combustíveis de origem fóssil. Além da alta dependência e a possível indisponibilidade futura, o uso a partir dessa gera impactos à natureza, tais como a descarga de gases nocivos à atmosfera, os gases de efeito estufa. Sendo assim, é necessária a disponibilização de novas tecnologias como alternativas energéticas, em especial os biocombustíveis. O presente trabalho tem como objetivo a produção de biodiesel a partir do óleo da amêndoa da macaúba (*Acrocomia aculeata*). Tal oleaginosa apresenta características excelentes para produção de biodiesel, como alta disponibilidade, alto índice de óleo, escalabilidade e resistência. O processo de conversão utilizado neste trabalho foi a reação de transesterificação por meio da catálise enzimática com uso do biocatalisador Lipozyme RM IM e tendo como agente transesterificante o metanol. A reação também investigou a utilização das ondas ultrassônicas como potencializador do processo. Para a determinação das melhores condições reacionais foi utilizado um planejamento experimental 2<sup>3</sup>, sendo as variáveis independentes o tempo (t), a temperatura (T) e a concentração de catalisador (C) e a variável dependente, o rendimento em ésteres. As concentrações de metanol e óleo da amêndoa permaneceram constantes (razão molar óleo:metanol de 1:6), assim como a frequência de onda do banho ultrassônico (40kHz). A quantificação dos ésteres obtidos foi realizada por cromatografia gasosa. A faixa de estudo que obteve a melhor eficiência teve como níveis utilizados tempo de 6 horas, a temperatura de 45°C e a concentração de biocatalisador próximo a 10% (m/m) em que se obteve um rendimento de 85,4%. Com base nos resultados obtidos como índice de acidez, composição e condições reacionais é possível concluir que o biodiesel derivado do óleo da amêndoa da macaúba se apresenta como uma alternativa viável como combustível renovável, escalável e quando comparado aos fósseis, apresentar menor impacto ambiental.

**PALAVRAS-CHAVE:** Biodiesel. Catálise Enzimática. Óleo da amêndoa da Macaúba.



## ABSTRACT

Given the current scenario, one of the fundamental pillars for environmental degradation is the excessive use of fossil fuels. Besides the high dependency and the possible future unavailability, the use from this generates impacts to nature, such as the discharge of harmful gases into the atmosphere, the greenhouse gases. Therefore, the availability of new technologies as energy alternatives, especially biofuels, is necessary. The present work aims at the production of biodiesel from the oil of the macaúba palm (*Acrocomia aculeata*). This oleaginous plant presents excellent characteristics for biodiesel production, such as high availability, high oil content, scalability and resistance. The conversion process used in this work was the transesterification reaction by enzymatic catalysis using the biocatalyst Lipozyme RM IM and having methanol as the transesterifying agent. The reaction also investigated the use of ultrasonic waves as a process enhancer. To determine the best reaction conditions a  $2^3$  experimental design was used, being the independent variables time (t), temperature (T) and catalyst concentration (C) and the dependent variable the yield in esters. The concentrations of methanol and almond oil remained constant (molar ratio oil:methanol 1:6), as well as the wave frequency of the ultrasonic bath (40kHz). The quantification of the obtained esters was performed by gas chromatography. The study range that obtained the best efficiency had as levels used time of 6 hours, temperature of 45°C and concentration of biocatalyst close to 10% (m/m) in which a yield of 85.4% was obtained. Based on the results obtained as acidity index, composition and reaction conditions it is possible to conclude that biodiesel derived from oil of the macaúba palm presents itself as a viable alternative as a renewable fuel, scalable and when compared to fossil fuels, present less environmental impact.

**KEYWORDS:** Biodiesel. Enzymatic Catalysis. Macauba Palm Oil.

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição em ácido graxo dos óleos da macaúba (amêndoa e polpa).....	25
Tabela 2 - Índices de acidez para os óleos da polpa e da amêndoa da macaúba. ....	26
Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das diferentes catálises. ....	28
Tabela 4 - Reagentes utilizados para o desenvolvimento do trabalho.....	32
Tabela 5 - Equipamentos utilizados na caracterização do óleo e do biocatalisador, para produção e purificação do biodiesel. ....	33
Tabela 6 - Variáveis e níveis avaliados no planejamento experimental.....	36
Tabela 7 - Matriz Planejamento Experimental $2^3$ . ....	37
Tabela 8 - Média da determinação da atividade enzimática.....	39
Tabela 9 - Índice de acidez do óleo da amêndoa da macaúba. ....	40
Tabela 10 - Composição e concentração de ácidos graxos no óleo da amêndoa da macaúba. ..	40
Tabela 11 - Matriz de resultados em ésteres e índice de acidez do planejamento experimental $2^3$ . ....	41
Tabela 12 - Coeficientes de regressão. ....	43
Tabela 13 - ANOVA para as médias em conversão de ésteres. ....	44
Tabela 14 - Melhores condições para os parâmetros utilizados .....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da evolução na produção de biodiesel em território nacional .....	22
Figura 2 - Frutos <i>Acrocomia aculeata</i> .....	24
Figura 3 - Resumo do processo de transesterificação do óleo vegetal. ....	26
Figura 4 - Passo a passo da reação de transesterificação de triglicerídeos.....	27
Figura 5 - Aparato experimental.....	35
Figura 6 - Gráfico de Pareto. ....	42
Figura 7 - Valores observados x Valores preditos.....	44

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1. Objetivo.....</b>	<b>15</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>17</b>
<b>2.1.Biodiesel.....</b>	<b>17</b>
2.1.1.Definição e contexto histórico.....	17
2.1.2.Comparação entre o biodiesel com o diesel fóssil.....	19
<b>2.2.Cenário e perspectivas .....</b>	<b>20</b>
2.2.1.Cenário global .....	20
2.2.2.Cenário nacional.....	21
<b>2.3.Óleos vegetais .....</b>	<b>22</b>
2.3.1.Macaúba .....	23
2.3.2.Composição .....	24
<b>2.4.Obtenção do biodiesel.....</b>	<b>26</b>
2.4.1.Transesterificação.....	26
2.4.2.Catalisadores e os tipos de catálise.....	27
2.4.3.Catálise Enzimática .....	29
2.4.4.Fatores que afetam o desempenho da enzima .....	30
2.4.5.Tecnologia de ultrassom aplicada no processo de transesterificação.....	30
<b>3.METODOLOGIA.....</b>	<b>32</b>
<b>3.1.Materiais e equipamentos .....</b>	<b>32</b>
<b>3.2.Determinação da atividade enzimática - lipozyme RM IM.....</b>	<b>33</b>
<b>3.3.Determinação do índice de acidez .....</b>	<b>34</b>
3.3.1.Óleo da amêndoa da macaúba .....	34
3.3.2.Biodiesel .....	35
<b>3.4.Procedimento experimental para produção do biodiesel.....</b>	<b>35</b>
3.4.1.Planejamento experimental $2^3$ - tempo, concentração de catalisador e temperatura .....	36
3.4.2.Purificação.....	37
3.4.3.Determinação do teor de ésteres metílicos .....	38
<b>4.RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>39</b>
<b>4.1.Determinação da atividade enzimática.....</b>	<b>39</b>
<b>4.2.Óleo de macaúba.....</b>	<b>39</b>
4.2.1.Análise do índice de acidez .....	39

4.2.2. Análise dos ácidos graxos .....	40
<b>4.3. Resultados da reação de produção do biodiesel.....</b>	<b>41</b>
4.3.1. Planejamento experimental .....	41
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>46</b>
<b>5.1. Trabalhos Futuros .....</b>	<b>46</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>48</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Desde a revolução industrial, iniciada no século XIX, os combustíveis fósseis, em especial o petróleo, foram e ainda são a maior fonte de matéria-prima da matriz energética a nível global. O principal impacto ambiental gerado no uso dos combustíveis derivados de fonte não renováveis é a emissão de gases do efeito estufa na atmosfera, em especial o CO<sub>2</sub>. Segundo o *The Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC*, o alto índice desses gases na atmosfera contribui com o aumento da temperatura média global, o aumento do nível do mar, a probabilidade de doenças respiratórias e o surgimento de novos vírus provenientes dos animais, os coronavírus (HOEGH-GULDBERG *et al.*, 2019). A utilização dessa matéria prima está relacionada a necessidade energética a nível global. De acordo com as projeções, os combustíveis fósseis atingiriam o consumo máximo na década de 2020 e, então, começaram a diminuir, revelando uma grande crise energética (ANGÉLICA *et al.*, 2020). Portanto, há a necessidade da busca por novas alternativas energéticas viáveis, como os biocombustíveis.

Os biocombustíveis são utilizados desde os primórdios como o uso de lenhas para o aquecimento de alimentos e, nos anos recentes, os processos foram otimizados, como por exemplo, a produção e uso de etanol. A utilização da biomassa como biocombustível é alvo de debates frequentes relacionados à sua eficiência ambiental e energética. Em uma perspectiva futura, a biomassa vegetal terá uma participação significativa na matriz energética renovável em nível global (RODRIGUES, 2021).

O biodiesel é uma denominação genérica para combustíveis derivados de fontes renováveis, tais como óleos vegetais, gordura animal, e também óleos oriundos da cocção de alimentos (fritura), possuindo os triacilglicerídeos como maiores componentes (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009). Entre as várias vantagens desse biocombustível destaca-se o fato de não requerer grandes adaptações nos motores a diesel existentes, emitir poluentes em quantidade e qualidade muito menos danosas à natureza e, claro, por ser produzido a partir de fontes renováveis (CARDOSO *et al.*, 2020; RAMOS *et al.*, 2003).

O biodiesel pode ser obtido a partir da reação de transesterificação de um óleo ou gordura junto a um agente transesterificante (metanol ou etanol), na presença de um catalisador, que pode ser classificado como homogêneo básico ou ácido, bem como heterogêneo básico, ácido ou enzimático (CARDOSO *et al.*, 2020). Embora a catálise homogênea seja mais comum, a heterogênea apresenta maiores vantagens. A catálise heterogênea enzimática apresenta características como a produção de glicerina com maior pureza, facilidade na separação e purificação dos produtos, não ocorrência de saponificação e o não gasto excessivo com água

na lavagem (DA SILVA, 2018). Entretanto, a utilização da catálise enzimática na produção de biodiesel gera um aumento econômico significativo. Técnicas como a reutilização das lipases e a submissão da reação em banhos ultrassônicos vem sendo cada vez mais estudadas pela capacidade de reduzir os gastos com o processo. No caso da tecnologia de ultrassom, além da redução econômica, a indução da transesterificação sob efeito das ondas pode promover uma maior eficiência de conversão e um menor tempo de processo (DE GODOY, 2019; SANTIN et al., 2017).

As oleaginosas apresentam as melhores características para extração do óleo e posteriormente indução ao processo de transesterificação. Em nível nacional, o Brasil apresenta enorme facilidade no cultivo de diversas espécies de oleaginosas com alto rendimento, consequência do seu clima tropical e solo ricamente irrigado. Entre diversas espécies, a macaúba (*Acrocomia aculeata*) apresenta características ideais como alternativas para plantio e captação do óleo. Dessa palmeira são extraídos dois óleos, o óleo de polpa e o óleo da amêndoa. Na composição química do óleo de amêndoa predominam os ácidos láurico, oleico e mirístico, já no óleo de polpa predominam os ácidos oleico e palmítico. Este perfil de ácidos graxos torna o óleo da macaúba atraente para a produção de biodiesel (MACHADO, 2013; RODRIGUES, 2021).

Diante da COVID-19, no ano de 2020, a indústria a nível global e nacional foi negativamente afetada pela queda de demanda dos combustíveis utilizados para transporte, restringindo a produção e reduzindo a lucratividade. Entretanto, o mercado de biodiesel foi um dos menos afetados no setor de transporte. Embora a demanda do diesel fóssil tenha caído, os níveis do combustível renovável foram mantidos por uma alta dos incentivos junto a maiores proporções de misturas (GLOBAL STATUS REPORT RENEWABLES, 2021).

## 1.1. Objetivo

O presente trabalho tem como objetivo a produção de biodiesel oriundo do óleo da amêndoa da macaúba, por meio do processo de transesterificação com catálise enzimática assistida por ultrassom. Tal estudo visa contribuir com os avanços tecnológicos para disponibilização do combustível como uma alternativa energética na matriz energética nacional. Para atingir o objetivo geral, o trabalho possui os seguintes objetivos específicos:

- Determinação da atividade enzimática da Lipozyme RM IM;
- Determinação do índice de acidez do óleo da amêndoa da macaúba;
- Determinação dos parâmetros reacionais por meio do planejamento experimental 2<sup>3</sup>;

- Produção do biodiesel por meio da reação de transesterificação com catálise enzimática assistida por ultrassom, e purificação;
- Determinação do índice de acidez do biodiesel produzido;
- Determinação dos compostos do biodiesel via cromatografia gasosa;



## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Neste capítulo são apresentadas informações descritivas do ponto de vista macro, tais como histórico, cenário atual, disponibilidade de recursos, comparações e políticas nacionais, como também do ponto de vista micro, ou seja, composição do óleo, o processo de transesterificação, a influência da enzima na reação e análise dos parâmetros reacionais.

### 2.1. Biodiesel

#### 2.1.1. Definição e contexto histórico

A demanda energética a nível global cresceu de forma expressiva desde a revolução industrial na Grã-Bretanha, na segunda metade do século XVIII. Embora tenha sofrido ameaças, como das usinas nucleares ou das hidrelétricas, a produção energética a partir de combustíveis fósseis se manteve como a principal alternativa na matriz energética mundial durante todo o século XIX, XX e no início do XXI (GEISSE; ARANEDA, 2018). Entretanto, em meados da década de 70, discussões sobre a política energética vigente, bem como preocupações econômicas, ambientais e de disponibilidade, começaram a ganhar volume (ANGÉLICA et al., 2020).

O contínuo e histórico uso de combustíveis fósseis tem provocado sérios problemas ambientais, como quantidades grandes de emissões de gases de efeito estufa no meio ambiente e o aquecimento global (DA SILVA, 2018). Segundo o relatório especial do *'The Intergovernmental Panel on Climate Change – IPCC'*, a atual média da temperatura global está 1,5°C acima da temperatura no período pré-industrial, e a perspectiva nas próximas duas décadas é de um aumento entre 1,5°C a 2°C. Uma das principais evidências desse desequilíbrio é a concentração de dióxido de carbono presente na atmosfera (HOEGH-GULDBERG et al., 2019). Segundo Carolina Genin, diretora de Clima da WRI Brasil, “temos 10 anos críticos diante de nós para conter o aumento da temperatura média da Terra”. Genin também lembra que o Brasil tem papel importante nesse contexto e visa que o país precisa acelerar a transição de sua economia para um modelo bem menos dependente de combustíveis fósseis (VEIGA, 2021).

Devido ao atual cenário bem como a perspectiva pessimista em relação ao ambiente, se faz necessário a busca por alternativas energéticas, preferencialmente renovável, além da inclusão dessas alternativas na matriz a nível nacional e global (LIMA, 2018). Um recurso

energético renovável é aquele em que o tempo de recuperação da fonte é menor ou semelhante ao tempo de exploração (GEISSE; ARANEDA, 2018), tais como o sol, as águas, os vento e as plantações que possuem alta disponibilidade e renovação.

Vale ressaltar que as tecnologias que se fazem presentes como alternativas sustentáveis, também conhecidas como tecnologia de baixo carbono, não só competem com as fontes de origem fóssil, mas também competem entre si (GÓES, 2021). Algumas fontes de energia renováveis disponíveis são: energia hidrelétrica, fotovoltaica, solar, eólica, geotérmica, biomassa ou bioenergia, entre muitas outras que buscam se firmar com viabilidade (GEISSE; ARANEDA, 2018). Dentre a gama de produtos secundários obtidos a partir da biomassa, temos: o biogás, o hidrogênio, o bioetanol e o biodiesel.

Os combustíveis de origem renovável, ou simplesmente biocombustíveis, são combustíveis derivados de matérias-primas renováveis. São utilizados desde os primórdios da humanidade, como por exemplo a madeira, utilizada para cozinhar e aquecer, bem como o óleo vegetal, usado como combustível para iluminação ou combustão (DA SILVA, 2018). A primeira vez que os biocombustíveis entraram em discussão para ser uma alternativa energética aplicada em motores foi no século passado, em 1911, com a apresentação do primeiro motor baseado na compressão-ignição, o motor diesel. Na época, não existiam combustíveis compatíveis com a tecnologia recém apresentada, levando Rudolph Diesel a utilizar o óleo de amendoim em seu primeiro teste. O próprio inventor testemunhou que a nova tecnologia poderia promover o desenvolvimento da agricultura onde os motores fossem utilizados (DE PAIVA, 2010).

Por definição, o biodiesel é um combustível produzido a partir de fontes renováveis como óleos vegetais, gorduras animais e óleos de cozinha já utilizados. Do ponto de vista químico, se trata de uma mistura de éster monoalquílico de ácidos graxos derivados de lipídeos de ocorrência natural (RAMOS et al., 2003). Para uso em motores, o biodiesel deve possuir suas características padronizadas e limitadas a proporções máximas, como o índice de glicerina, água, resíduo de catalisador e álcool (ou metanol). Os parâmetros de padronização alternam de acordo com o país ou bloco econômico. No Brasil, o órgão regulamentador é a Agência Nacional do Petróleo - ANP (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; LOBO; FERREIRA; CRUZ, 2009).

### 2.1.2. Comparação entre o biodiesel com o diesel fóssil

Apesar do biodiesel fornecer cerca de 10% a menos de energia do que o diesel de petróleo, sua performance no motor no que se refere à potência e ao torque é a mesma (DA SILVA, 2018). A utilização do combustível está associada à substituição de combustíveis fósseis em motores diesel, sendo possível ser consumido puro (B100) ou em mistura com o diesel de petróleo. No Brasil, até outubro de 2021, a proporção vigente de adição de biodiesel no diesel de origem fóssil era de 13% (B13), entretanto, em caráter temporário a proporção foi reduzida a 10% (B10) (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; MASSALLI, 2021).

O biodiesel apresenta maior viscosidade quando comparado ao diesel de petróleo, além de baixa volatilidade devido às suas estruturas moleculares (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009). Esse alto índice de viscosidade pode provocar a formação de gomas durante a estocagem, combustão e diluição do combustível no lubrificante, além de impedir a queima completa, formando depósitos nos bicos injetores dos motores (DA SILVA, 2018). Entretanto, a alta viscosidade proporciona uma melhor lubrificação no motor, reduzindo o desgaste do mesmo. No atual cenário de tecnologia e disponibilidade, a mistura de biodiesel e diesel apresenta maior eficiência energética, além da diminuição de ruídos, e quando comparado apenas com o combustível oriundo de fontes não renováveis, a mistura apresenta também uma menor emissão de materiais particulados e gases que contribuem para redução do efeito estufa (DE PAIVA, 2010; RAMOS *et al.*, 2003).

A produção e utilização do biodiesel oferece um ganho ambiental de grande importância. A diminuição das emissões de grande parte dos gases nocivos e o balanço da quantidade de dióxido de carbono emitido na atmosfera são dois dos principais pilares ambientais do combustível. Em números, o uso de uma tonelada de biodiesel apresenta uma redução de 2,5 toneladas de CO<sub>2</sub> presentes na atmosfera (CARDOSO *et al.*, 2020). Trata-se, portanto, de um combustível mais apropriado para a utilização em larga escala, que visa o desenvolvimento efetivo de boas práticas ambientais ao disponibilizar um combustível sem que a natureza tenha seus recursos básicos exauridos (ADRIANO; BASSOTTO, 2021). Outra vantagem da utilização do biocombustível em relação ao diesel oriundo do petróleo é a biodegradabilidade, que proporciona facilidade na decomposição em caso de acidentes (DA SILVA, 2018).

Do ponto de vista econômico, a viabilidade do biodiesel está relacionada diretamente com o estabelecimento de um equilíbrio favorável na balança comercial brasileira. Conhecer a demanda futura do biodiesel no país e no mundo é necessária para as tomadas de decisões do setor, além de auxiliar na criação de estratégias para assegurar a disponibilidade das matérias-

primas necessárias para a produção deste combustível, de forma a evitar déficit na capacidade de produção e assegurar a viabilidade de investimentos (CAIRES; SIMONELLI, 2021).

Quando comparado com os combustíveis de origem fóssil, o biodiesel apresenta alto valor dos óleos vegetais, além da competição com a indústria alimentícia (CARDOSO *et al.*, 2020). Uma das alternativas viáveis para a amenização desses problemas é o reuso das matérias-primas, como óleos e gorduras residuais, a melhor seleção de oleaginosas, bem como o desenvolvimento da agricultura familiar, onde além de promover uma cadeia sustentável e fonte de renda para as famílias, é possível promover uma maior disponibilidade do óleo vegetal (CÉSAR *et al.*, 2015).

Segundo (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009), estudos sugerem que, a cada 1% de participação da agricultura familiar no mercado de biodiesel do Brasil, seria possível gerar cerca de 45 mil empregos no campo. O mesmo estudo aponta que cada R\$ 1,00 aplicado na agricultura familiar gera R\$ 2,13 adicionais na renda bruta anual, o que significa que a renda familiar dobraria com a participação no mercado do biodiesel.

## **2.2. Cenário e perspectivas**

### **2.2.1. Cenário global**

Segundo o GLOBAL STATUS REPORT RENEWABLES (2021), a Indonésia foi a nação com maior produção de biodiesel no planeta, com estimados 8 bilhões de litros produzidos a partir de óleo de palma. O consumo desse combustível foi e continua sendo impulsionado pelo mandato de mistura B20, junto ao apoio da taxaço sobre a exportação do óleo. Além do país asiático, os Estados Unidos também apresentaram grandes produções de biodiesel. Já em proporções menores, se fazem presentes os países da União Europeia, como Alemanha, França e Itália, e países da América Latina, como Argentina e Brasil. A produção global de biodiesel referente ao ano de 2020 não apresentou grandes variações quando comparada ao ano anterior, diferentemente do que foi apresentado nos anos anteriores. O principal indicador para a estabilização desse índice foi a pandemia da COVID-19. A produção mundial de biodiesel foi de 46,5 bilhões de litros, enquanto em 2019 foi de 46,8 bilhões de litros (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA, 2021).

O que relaciona os países com os melhores indicadores do uso dessa fonte alternativa é o fornecimento de subsídios para incentivar as plantações agrícolas, a isenção parcial de impostos na produção, a taxaço para exportações das matérias-primas, além de um mercado ativo. O

principal uso é no setor de transporte rodoviário, com pequena fração empregada na geração de eletricidade (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009).

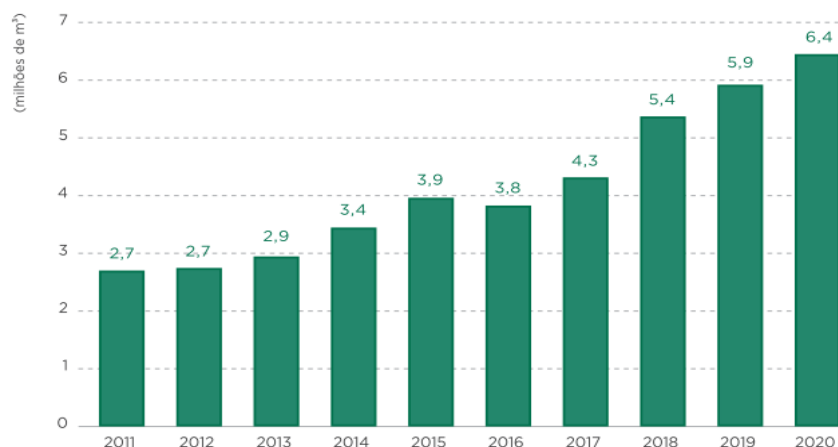
### 2.2.2. Cenário nacional

A produção de biodiesel se torna viável no Brasil diante da extensão territorial bem como devido à diversidade climática para o cultivo de oleaginosas (CARDOSO *et al.*, 2020). Também é válido reforçar que, o território brasileiro apresenta áreas viáveis para produção dessas matérias-primas, como em pastagens já abandonadas pela agropecuária no Centro-oeste ou áreas degradadas da Amazônia. Estas áreas poderiam ser utilizadas para o plantio sem prejudicar a produção de alimentos (SUAREZ *et al.*, 2009).

A busca e inserção de combustíveis de origem renovável no território brasileiro se deu a partir da década de 70 devido às fortes instabilidades petrolíferas, promovendo a criação de políticas na promoção de fontes energéticas sustentáveis. Na época, foi desenvolvido o programa PRÓALCOOL, que buscava incentivar a produção e utilização do álcool no país. Já na década de 80, surgiu o programa PRÓ-ÓLEO, que tinha como objetivo a regulamentação da mistura de óleo vegetal e óleo diesel, visando num futuro a substituição total. O programa foi abandonado logo em seguida pela grande variação do preço do petróleo, mantendo-se apenas no cenário de pesquisas acadêmicas (MACHADO, 2013). Atualmente, temos como incentivo o Programa Nacional de Produção e uso do Biodiesel no Brasil (PNPB), um programa interministerial do governo federal que objetiva a implementação de forma sustentável, tanto técnica como econômica, da produção e uso do biodiesel, com enfoque na inclusão produtiva e no desenvolvimento rural sustentável, via geração de emprego e renda (LIMA, 2018).

No Balanço Energético Nacional referente ao ano de 2020, a capacidade nominal de produção de biodiesel (B100) no Brasil foi de 10,2 milhões de m<sup>3</sup>, enquanto a produção anual foi de 6,4 milhões de m<sup>3</sup>, o que representa 62,9% da capacidade total. O estado do Rio Grande do Sul apresentou a maior produção do combustível, com um volume de aproximadamente 1,8 milhão de m<sup>3</sup>, equivalente a 27,9% do total nacional, seguido do Mato Grosso, com 1,2 milhão de m<sup>3</sup> (19,1% do total nacional) (ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, 2021). A evolução na produção de biodiesel é apresentada no Figura 1.

Figura 1 - Representação da evolução na produção de biodiesel em território nacional



Fonte: (ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS: 2021).

Embora o Brasil possua uma grande variedade de sementes e frutos oleaginosos que podem ser cultivados em diferentes regiões do país, e venha demonstrando um crescimento de produção e exportação, o país ainda está longe de atingir níveis de produção e consumo expressivos como Estados Unidos, Indonésia e União Europeia. É interessante buscarmos a promoção desse biocombustível por meio da possibilidade de redução na dependência brasileira das importações de petróleo e pela capacidade de promover vantagens econômicas. Além disso, a produção e o cultivo das matérias-primas no Brasil podem criar milhares de novos empregos, inclusive na agricultura familiar, principalmente nas regiões mais pobres do Brasil (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA, 2021; JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; LIMA, 2018).

### 2.3. Óleos vegetais

É possível produzir biodiesel a partir de qualquer óleo e gordura, porém é necessário se avaliar a viabilidade técnica, econômica e a qualidade do biocombustível obtido. Esses materiais, que podem ser de origem animal ou vegetal, possuem ácidos graxos livres ou esterificados com glicerol nas formas de mono, di ou triglicerídeos. Entre tantas matérias-primas, destacam-se as oleaginosas pelo seu alto poder calorífico e capacidade de conversão em biocombustível. Os compostos com menor cadeia de ácidos graxos garantem melhor rendimento ao processo, tendo de forma mais eficiente a interação com o agente transesterificante e catalisador (JARDINE; DISPATO; PERES, 2009; LIMA, 2018; RODRIGUES, 2021; VIEIRA *et al.*, 2018).

A soja, principal matéria-prima utilizada no Brasil para produção de biodiesel, apresentou no ano de 2020 uma parcela na produção do B100 equivalente a 71,4% na produção anual nacional. Outras matérias-primas, que incluem óleo de palma, óleo de amendoim, óleo de nabo-forrageiro, óleo de girassol, óleo de canola, óleo de milho, óleo de palmiste, óleo de fritura usado e outros materiais graxos corresponderam à segunda maior quantidade utilizada, equivalente a 15,6% do total, seguida por gordura animal (11,3% do total) e óleo de algodão (1,7%). Embora a tendência nos próximos anos seja a permanência do óleo de soja como a principal fonte, verifica-se a necessidade de diversificação de insumos, visando o atendimento aos aumentos mandatórios previstos (ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS, 2021; EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA, 2021).

A escolha da matéria-prima é um dos principais pontos para a produção de biodiesel. Fatores econômicos, sociais e de produção devem estar ligados diretamente na escolha da fonte, além de estar de acordo com a disponibilidade de cada região ou país, e que forneça um produto final com características físico-químicas próximas ao do diesel. Pesquisas comprovam que a macaúba é uma das oleaginosas mais promissoras para atender programas de biodiesel em larga escala (LIMA, 2018; MACHADO, 2013; VIEIRA *et al.*, 2018).

### 2.3.1. Macaúba

A macaúba é uma palmeira nativa da América tropical, está presente desde o México até a América do Sul, principalmente no Brasil. No país existem 3 espécies dessa palmeira, a *Acrocomia aculeata* (macaúba tradicional), *Acrocomia totai* (macaúba de caule liso, Bocaiuva), e *Acrocomia intumescens* (macaúba-barriguda, macaúba) (COSTA, 2016; RODRIGUES, 2021).

A macaúba tradicional, *Acrocomia aculeata*, se faz presente em vários biomas brasileiros, em especial nos estados de Minas Gerais, Mato Grosso do Sul, Paraná, Rio de Janeiro e São Paulo. Sua principal característica é a presença de espinhos escuros e pontiagudos na região dos nós (tronco) e possui uma altura próxima de 15m. Trata-se de uma palmeira de alta resistência a variações climáticas, contra pragas e doenças com uma vida útil de exploração superior a 25 anos. A sua principal utilidade econômica é a produção de óleos que são extraídos de seus frutos. Os popularmente conhecidos como ‘coquinhos’ possuem coloração verde amarelada e consistem em uma casca fibrosa (exocarpo), polpa (mesocarpo) e a amêndoa envolvida pelo endocarpo. A frutificação ocorre durante todo o ano e os frutos amadurecem, principalmente,

entre setembro a janeiro (LORENZI; NEGRELLE, 2006; RODRIGUES, 2021; TELES *et al.*, 2011).

A macaúba pode assumir o papel das principais alternativas na cadeia de biocombustível. A viabilização dessa palmeira pode promover uma maior disponibilidade de recursos para a produção de biodiesel, além da promoção da economia e a agricultura familiar. Entretanto, para o desenvolvimento efetivo da macaúba na matriz de matérias-primas do biodiesel é necessário a domesticação da espécie, a fim de se obter maior produção e maior homogeneização do produto (MACHADO, 2013; NOBRE *et al.*, 2015).

Figura 2 - Frutos *Acrocomia aculeata*



Fonte: Nilton Junqueira (2014).

### 2.3.2. Composição

Há dois tipos de óleo presentes no fruto da macaúba, o óleo da amêndoa e o óleo da polpa. Da amêndoa, é retirado um óleo fino e transparente, rico em ácido láurico e oleico. Enquanto da polpa, o óleo extraído se faz presente uma coloração vermelha amarelado, rico em ácido oleico e palmítico (EVARISTO *et al.*, 2016; MACHADO, 2013). A concentração de óleo, umidade e acidez presentes no fruto da macaúba estão sujeitos a oscilações, que se dão pelas variações de região e época do ano (COSTA, 2016). A composição dos ácidos presentes no óleo de macaúba *Acrocomia aculeata* é apresentada na Tabela 1.



Tabela 1 - Composição em ácido graxo dos óleos da macaúba (amêndoa e polpa).

Ácidos Graxos (%)	Amêndoa			Polpa		
	A	B	C	A	B	C
Ácido Caprílico C8:0	5,22	2,10	6,20	-	-	-
Ácido Cáprico C10:0	4,56	3,72	5,30	-	-	-
Ácido Láurico C12:0	44,14	38,89	43,60	1,56	2,93	-
Ácido Mirístico C14:0	8,45	11,00	8,50	0,49	1,88	-
Ácido Palmítico C16:0	6,57	17,35	5,30	12,18	22,30	18,70
Ácido Palmítico C16:1	-	-	-	-	5,28	4,00
Margárico C17:0	-	-	-	-	4,34	-
Ácido Esteárico C18:0	2,11	4,34	2,40	2,64	5,75	2,80
Ácido Oleico C18:1	25,76	22,60	25,50	69,07	52,82	53,40
Ácido Linoleico C18:2	3,19		3,30	6,77	4,62	17,70
Ácido Linolênico C18:3	-	-	-	-	-	1,50
Ácido Palmitoleico C16:1	-	-	-	1,36	-	-
Ácido Oleico Trans C18:1	-	-	-	2,47	-	-
Ácido Docosadenoico	-	-	-	1,77	-	-
Ácido Docosahexaenoico	-	-	-	1,69	-	-
<b>Total</b>	100	100	100	100	100	100

Fonte: adaptado (A – (AMARAL, 2007); B - (FORTES; BAUGH, 2004); C – (CETEC, 1983)).

Os índices de acidez dos óleos da amêndoa e da polpa de macaúba são apresentados na Tabela 2. As variações no teor de acidez podem ser explicadas pelo tempo, forma de extração e armazenamento do óleo. Observa-se que os óleos do mesocarpo (polpa) apresentam índices de acidez superiores aos óleos da amêndoa. É importante observar que, ao se utilizar um óleo com alto índice de acidez, quando aplicado em catálise básica, pode provocar a formação de estruturas saponificadas (COSTA, 2016; DE SOUZA RODRIGUES, 2007).

Tabela 2 - Índices de acidez para os óleos da polpa e da amêndoa da macaúba.

	Índice de acidez ( $\text{mg}_{KHO}/\text{g}_{\text{óleo}}$ )	
	Amêndoa	Polpa
(AMARAL, 2007)	12,8	59,9
(DE SOUZA RODRIGUES, 2007)	1,7 - 24	10 - 91

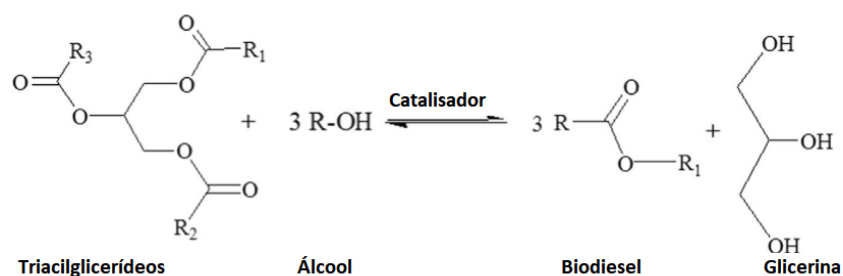
Fonte: Adaptado (AMARAL, 2007; DE SOUZA RODRIGUES, 2007).

## 2.4. Obtenção do biodiesel

### 2.4.1. Transesterificação

A principal rota de produção do biodiesel no Brasil e no mundo é a transesterificação (ou alcoólise). Trata-se de um processo simples e viável, amplamente utilizado na indústria para conversão de óleos e gorduras em biodiesel (RODRIGUES, 2021). Nessa reação, que ocorre de forma consecutiva e reversível, o óleo ou gordura, que são compostos basicamente de triacilglicerídeos, é misturado ao metanol ou etanol, na presença de um catalisador dando origem a ésteres monoalquílicos de ácidos graxos e glicerol. Normalmente a transesterificação dos triacilglicerídeos é realizada em presença de metanol como agente de alcoólise, pois a reação ocorre com maior eficácia na presença desse álcool (MENEGHETTI; MENEGHETTI; BRITO, 2013; SUAREZ *et al.*, 2009). A Figura 3 apresenta de forma geral e resumida a reação de transesterificação de triacilglicerídeos.

Figura 3 - Resumo do processo de transesterificação do óleo vegetal.

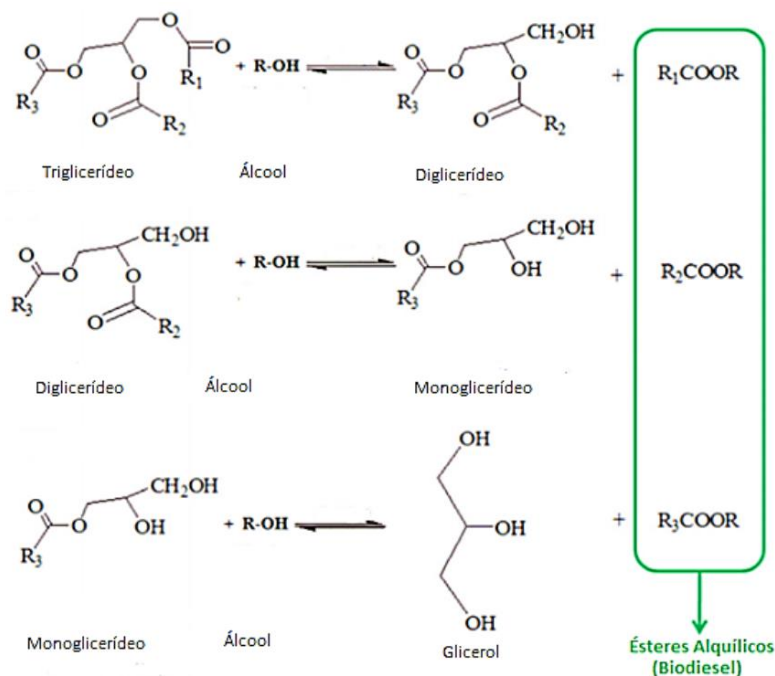


Fonte: “adaptado”(AVHAD; MARCHETTI, 2015).

A reação da transesterificação de óleos vegetais (triacilglicerídeos) ocorre em três etapas consecutivas. A concentração de diacilgliceróis (diglicerídeos) aumenta de acordo com o

consumo dos triglicerídeos (triacilglicerídeos), enquanto o monoglicerídeos (monoacilgliceróis) aumentando com o consumo do diglicerídeos. Em seguida, ocorre o consumo dos monoglicerídeos para a formação de ésteres metílicos (biodiesel) e glicerol (DA SILVA, 2018). O passo a passo da reação é apresentado no Figura 4.

Figura 4 - Passo a passo da reação de transesterificação de triglicerídeos.



Fonte: (DA SILVA, 2018).

O rendimento da reação depende do deslocamento do equilíbrio químico em favor dos ésteres, através da otimização de fatores tais como a temperatura de reação, a concentração e caráter ácido-base do catalisador, bem como o excesso estequiométrico do agente de transesterificação. Porém, conversões com máxima eficiência são literalmente impraticáveis (RAMOS *et al.*, 2003).

#### 2.4.2. Catalisadores e os tipos de catálise

Os catalisadores podem ser classificados em homogêneos ou heterogêneos. Entende-se por catálise homogênea quando o catalisador está na mesma fase dos reagentes e heterogênea quando está em fase diferente. A catálise também pode ser classificada como ácida, básica ou enzimática (DA SILVA, 2018). As vantagens e desvantagens de cada catalisador são apresentadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Vantagens e desvantagens das diferentes catálises.

<b>Tipo de Catálise</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Homogênea base</b>	<p>Reação rápida (4000 vezes mais rápida que a catálise ácida).</p> <p>Condições amenas de reação e menor gasto energético.</p> <p>Catalisadores como NaOH e KOH são relativamente baratos e disponíveis.</p>	<p>Sensível a ácidos graxos livres.</p> <p>Formação de sabão, diminuindo o rendimento de biodiesel</p> <p>Gasto excessivo de água na purificação dos produtos.</p>
<b>Homogênea ácida</b>	<p>Insensível a AGL e à quantidade de água presentes no óleo - óleo de menor qualidade.</p> <p>Esterificação e transesterificação ocorrem simultaneamente.</p> <p>Condições amenas de reação e menor gasto energético.</p>	<p>Reação muito lenta.</p> <p>Pode ocorrer corrosão do reator se for utilizado catalisador corrosivo.</p> <p>Dificuldade na separação do catalisador e produto.</p>
<b>Heterogênea base</b>	<p>Relativamente mais rápida que a catálise ácida.</p> <p>Condições amenas de reação e menor gasto energético.</p> <p>Fácil separação do catalisador e possibilidade de reuso do mesmo.</p>	<p>Sensível aos AGL presentes no óleo.</p> <p>Formação de sabão se a porcentagem de AGL for maior do que 2%.</p> <p>Catalisador pode contaminar do produto.</p>
<b>Heterogênea ácida</b>	<p>Insensível a AGL e à quantidade de água presentes no óleo.</p> <p>Esterificação e transesterificação ocorrem simultaneamente.</p>	<p>Reação muito lenta.</p> <p>Pode ocorrer corrosão do reator se for utilizado catalisador corrosivo.</p>

Fonte: “adaptado” (LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Na indústria, os catalisadores bases apresentam maior proporção, normalmente utilizadas bases inorgânicas como hidróxidos de sódio e potássio e bases de Lewis. Entretanto, em escalas

menores e laboratoriais ocorrem também reação com outros catalisadores (ácidos e alcalinos), como os ácidos minerais (ácido sulfúrico), resinas de troca iônica (resinas catiônicas fortemente ácidas), argilominerais ativados, hidróxidos duplos lamelares, superácidos, superbases. Já na catálise enzimática, o catalisador enzimático utilizado são as enzimas lipolíticas (lipases) (RAMOS *et al.*, 2003).

#### 2.4.3. Catálise Enzimática

Em comparação com o processo químico convencional, a produção de biodiesel a partir da transesterificação com catálise enzimática apresenta grandes perspectivas. As lipases (triacilglicerol éster hidrolases, EC. 3.1.1.3) são enzimas capazes de catalisar a hidrólise de ésteres, especialmente triglicerídeos de cadeia longa, liberando ácidos graxos livres e glicerol (DE FREITAS, 2018). A utilização de lipases apresenta diversas vantagens, como condições de reação moderadas, fácil recuperação do produto e respeito ao meio ambiente. Além disso, as lipases necessitam de temperaturas mais baixas para catalisar a reação, acarretando em menor gasto de energia. Também apresenta maior abrangência de matérias-primas, uma vez que não necessita apenas de óleos ou gorduras com baixa quantidade de ácidos graxos livres (LAM; LEE; MOHAMED, 2010; LV *et al.*, 2021).

As lipases podem ser utilizadas nas mais diversas reações, tanto na sua forma livre, quanto imobilizada. No entanto, a imobilização oferece um processo mais vantajoso (DE FREITAS, 2018). O processo de imobilização é a retenção de uma molécula em um suporte sólido, não solúvel no meio de reação. Tal característica ajuda na preservação da seletividade, atividade e estabilidade molecular (DENTI, 2021).

Entre as vantagens da utilização da enzima imobilizada em relação ao método livre podemos citar o aumento da estabilidade térmica, resistência a desnaturação proteica por solventes químicos, uma maior razão enzima/substrato que podem reduzir o tempo requerido de digestão, bem como a purificação do biodiesel final devido à facilidade de recuperação da lipase (FURLANI *et al.*, 2020; LAM; LEE; MOHAMED, 2010).

Embora a utilização da catálise enzimática na produção de biodiesel tenha um alto valor, a imobilização enzimática se torna uma alternativa para solucionar essas dificuldades, já que o reuso de biocatalisador é fundamental para implementação em escala industrial (DE FREITAS, 2018; DENTI, 2021).

#### 2.4.4. Fatores que afetam o desempenho da enzima

O estudo dos parâmetros que influenciam a atividade e a estabilidade das enzimas é fundamental para tornar o processo enzimático mais competitivo. A estabilidade enzimática é a capacidade que as enzimas têm de reter a sua atividade catalítica ao longo do tempo de reação. Já a atividade enzimática é a medição da velocidade inicial da reação (VIEIRA, 2018).

A atividade e a estabilidade das lipases são influenciadas por diversos fatores, destacando-se a temperatura, o pH, a agitação, a composição do meio reacional (concentração do substrato, razão molar entre substratos), a presença de solventes orgânicos, de agentes oxidantes e de compostos inibidores da atividade enzimática. Além do mais, é interessante conhecer a origem da enzima a ser aplicada no processo (DE FREITAS, 2018; VIEIRA, 2018). Embora os mesmos fatores sejam influentes para todas as enzimas aplicadas no processo de transesterificação, eles podem variar entre si de acordo com a enzima utilizada e as condições apresentadas.

A melhor temperatura para o funcionamento da reação de transesterificação com catálise enzimática é aquela que a velocidade de reação seja máxima, desde que a temperatura não desative a enzima por desnaturação. Esta é chamada de temperatura ótima e pode ser influenciada pela estabilidade da enzima, razão molar de álcool/óleo e o tipo de solvente orgânico utilizado. Muitas enzimas apresentam a temperatura ótima em torno de 40°C. No geral, lipases bacterianas exibem uma termoestabilidade maior do que lipases microbianas (ROCHA, 2018).

Cada enzima também apresenta uma faixa de pH ideal particular. Lipases bacterianas têm pH ótimo entre neutro e alcalino, enquanto que lipases de leveduras e fungos são mais ativas em pH entre neutro a ligeiramente ácido, no entanto, algumas lipases são ativas e estáveis ao longo de uma faixa de pH mais ampla (ROCHA, 2018).

#### 2.4.5. Tecnologia de ultrassom aplicada no processo de transesterificação

Ultrassom são vibrações com frequência muito altas, acima de 20kHz. São inaudíveis e se propagam através de meios líquidos, sólidos e gasosos. São vibrações geradas a partir do efeito piezoelétrico por meio de transdutores (ANDREUCCI, 2014).

Quando aplicada na transesterificação, as ondas de ultrassom promovem uma série de vantagens à reação. É observável que o uso da tecnologia pode reduzir o tempo de processo, e de separação de fases, bem como reduzir a quantidade de catalisador e o excesso de álcool, além de produzir um produto e subproduto com maior pureza. Na produção de biodiesel com

catálise enzimática, é preciso ter um maior cuidado com o uso do ultrassom, visto que o fenômeno de cavitação gera um aumento na temperatura da reação. Entretanto, a utilização contribui para uma mistura de reação mais homogênea e facilita a dispersão de lipase através da mídia de substrato, reduzindo a aglomeração de modo que a taxa de reação não diminui com o aumento da concentração de lipase (DE FREITAS, 2018; SANTIN *et al.*, 2017b).

Dentro da reação de transesterificação assistida por ultrassom são definidos três mecanismos principais para tais características. O primeiro está relacionado com as interações físicas causadas pelo campo alternante de pressões, que causam a compressão e a rarefação no solvente. O segundo está relacionado ao fenômeno da cavitação sonora que consiste na geração de pequenas bolhas no interior do líquido, que posteriormente são submetidas a um violento colapso. O terceiro efeito está relacionado a emulsificações geradas a partir da ruptura das superfícies de contornos entre as fases, em consequência do processo anterior. Emulsões ultrassônicas são mais estáveis termodinamicamente, promovendo um aumento considerável na área sujeita a essa reação química, aumentam a concentração das espécies reativas e melhoram a transferência de massa entre reagentes (DE PAIVA, 2010; MACHADO, 2013).

Dentre as formas de aplicação do ultrassom para a produção do biodiesel merece atenção a adoção de tecnologias e a seleção dos parâmetros. O modo de geração da onda (contínuo ou pulsado), a frequência e a potência ultrassônica, e a temperatura apresentam implicações diretas no resultado final da tecnologia. Existe também a forma de irradiação a ser utilizada, sendo elas: a direta, por meio de sonda e transdutor, e a irradiação indireta, por meio do banho ultrassônico. O método indireto, embora apresente menor eficiência, consiste em equipamentos de fácil aquisição e baixo custo (OLIVEIRA, 2018).

A investigação da viabilidade desta rota tecnológica desponta como potencial alternativa na obtenção de biodiesel de elevada pureza, convertido em curtos intervalos de tempo e, portanto, capaz de suprir elevadas demandas de mercado (DE PAIVA, 2010). Apesar das inúmeras vantagens na utilização de um sistema de ultrassom para a síntese de biodiesel, novas pesquisas precisam ser desenvolvidas a fim de superar as limitações técnicas. Muitas metodologias já vêm sendo desenvolvidas, na busca de melhorar esse processo e reduzir seus custos, possibilitando o aumento de escala (DE FREITAS, 2018).

### 3. METODOLOGIA

A seguir serão apresentadas as metodologias, materiais e equipamentos empregados na execução dos experimentos deste trabalho. Os processos realizados foram: a caracterização da enzima e do óleo de macaúba e a produção do biodiesel assistido por ultrassom.

#### 3.1. Materiais e equipamentos

Os substratos utilizados para produção de biodiesel foram etanol 99% da Synth e óleo de amêndoa de macaúba que foi disponibilizado pela Universidade Federal de Viçosa – Minas Gerais. Os reagentes utilizados para os demais procedimentos foram comercialmente obtidos, todos em grau analítico (P.A.) e são apresentados na Tabela 4. Todos os reagentes foram utilizados sem tratamento prévio.

Tabela 4 - Reagentes utilizados para o desenvolvimento do trabalho.

Material	Marca e grau analítico
Etanol 99%	Synth, 99%
Metanol	Synth, P.A.
Azeite de oliva	Carbonel
Goma arábica	Synth, P.A.
Fosfato de Sódio dibásico $Na_2HPO_4$	Synth, P.A.
Ácido fosfórico	Synth, P.A.
Acetona	Synth, P.A.
Fenolftaleína	Synth, P.A.
Hidróxido de Sódio KOH	Êxodo científica, P.A.
Biftalato de potássio	Synth, P.A.
Heptano	Synth, P.A.

Fonte: Próprio autor.

Os equipamentos utilizados para os processos de caracterização do óleo da amêndoa e do biocatalisador, para a produção e purificação do biodiesel estão listados e descritos na Tabela 5.



Tabela 5 - Equipamentos utilizados na caracterização do óleo e do biocatalisador, para produção e purificação do biodiesel.

Equipamento	Descrição	Aplicação
Lavadora de Ultrassom	3 litros Q3.0/40 Eco-Sonics	Reação de transesterificação
Centrífuga	Excelsa Ii Fanem 8 tubos	Separação das fases
Estufa	Lucacadema 85L	Secagem do solvente
Cromatógrafo gasoso	GC-2010 Shimadzu	Determinação do rendimento em ésteres

Fonte: Próprio autor.

### 3.2. Determinação da atividade enzimática - lipozyme RM IM

A determinação da atividade enzimática é de suma importância para a análise da interferência da enzima na reação. A atividade enzimática é a quantidade de atividade ou a quantidade de enzima que libera 1  $\mu\text{mol}$  de ácido graxo por minuto de reação, nas condições de ensaio (SANDER, 2018). A caracterização da lipase Lipozyme RM IM foi determinada pela adaptação do método de hidrólise do azeite de oliva (SOARES *et al.*, 1999). Nesse método, são realizadas 4 corridas, diferenciadas pelo tempo de reação (5, 10, 15 e 20 minutos), realizadas em duplicata.

Para cada amostra, foi adicionada em um erlenmeyer de 125 mL, uma solução de substrato (composto por azeite de oliva, água destilada e goma arábica) e uma solução tampão de fosfato de sódio (0,1M). Após atingir a temperatura de 37°C, foi adicionado o biocatalisador imobilizado, dando início à reação. Transcorrido o tempo de cada ensaio, a temperatura e agitação constante, foi adicionada uma mistura de acetona, etanol e água destilada (1:1:1) para interromper a reação. Para a preparação da amostra de controle foi adicionada no erlenmeyer uma mistura de substrato, solução de tampão de fosfato de sódio e água destilada.

Para determinar a atividade enzimática, o produto da reação foi titulado com uma solução de KOH (0,04N) e indicado com uma solução de fenolftaleína 1%. O cálculo para determinação da atividade é dado pela Equação 1.

$$\text{Atividade} \left( \frac{\mu\text{mol}}{\text{mg} \cdot \text{min}} \right) = \frac{(V_a - V_b) \cdot N}{t \cdot m} \quad (1)$$

Sendo:

$m$  = massa de enzima livre (mg);

$N$  = normalidade da solução de KOH (N);

$t$  = tempo de reação;

$V_a$  = volume de KOH gasto na titulação da amostra (mL);

$V_b$  = volume do KOH gasto na titulação do controle (mL).

### 3.3. Determinação do índice de acidez

#### 3.3.1. Óleo da amêndoa da macaúba

O índice de acidez (IA) de uma substância está ligado com a natureza e a qualidade do produto e da sua matéria-prima. Além da importância na avaliação das condições de conservação, a determinação desse índice indica os parâmetros a serem utilizados na reação de transesterificação.

Segundo o método AOCS Cd 3d -63, a determinação do valor ácido da amostra se dá por titulação, sendo o índice de acidez a quantidade de hidróxido de potássio (KOH) necessários para neutralizar os ácidos graxos livres da amostra, no caso, o óleo da macaúba.

Para a determinação do índice de acidez do óleo da amêndoa da macaúba, em um erlenmeyer de 250 mL, foi adicionado aproximadamente 2,5 g de óleo, seguido de 50 mL de uma mistura neutralizada de éter e álcool etílico (1:1), e a adição de 3 gotas da solução indicadora fenolftaleína (1%). A solução foi titulada com solução de hidróxido de sódio (KOH) 0,1N, previamente padronizada, até a obtenção de uma coloração levemente rósea. O processo foi realizado em duplicata. O V.A. pode ser calculado pela Equação 2.

$$V.A. = \frac{56,1 * N * G}{m} \quad (2)$$

Sendo:

$G$  = volume de KOH adicionado (mL);

$N$  = Normalidade da solução de KOH;

$M$  = Peso molecular do ácido correspondente;

$m$  = massa da amostra (g).

### 3.3.2. Biodiesel

Para a determinação do índice de acidez do biodiesel purificado, resultante da reação de transesterificação, foi utilizado a mesma metodologia do que apresentada na seção 3.3.1.

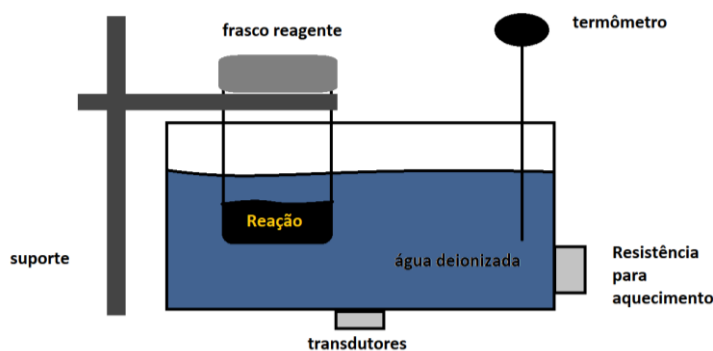
### 3.4. Procedimento experimental para produção do biodiesel

A produção do biodiesel foi realizada através do processo de transesterificação, com catálise enzimática com uso da lipase lipozyme RM IM, e o metanol ( $CH_3OH$ ) como agente transesterificante. Todas as reações ocorreram submersos em banho ultrassônico e foram realizadas em duplicata. Para cada reação foi determinado o teor de acidez do resultante purificado da reação e comparando com a acidez inicial do óleo. Posteriormente o biodiesel foi analisado pelo método de cromatografia gasosa para determinação do rendimento em ésteres.

As reações foram conduzidas em frascos reagentes de vidro de 125ml com vedação total, submersos em água deionizada, assistido por banho ultrassônico com frequência fixa de 40 kHz. A temperatura do meio foi controlada automaticamente pela lavadora ultrassônica a partir da configuração inicial, e verificada constantemente por meio de um termômetro de mercúrio.

Para todas as reações, foi fixado as proporções de 5 gramas de óleo da amêndoa da macaúba e metanol numa razão molar fixa de 1:6 (óleo:metanol). Os meios foram incubados junto a lipozyme RM IM em proporções definidas pelo planejamento experimental <sup>23</sup>. A duração e a temperatura do processo variaram de acordo com cada corrida. No final de cada reação, o produto da reação foi transferido para tubo Falcon e encaminhado para o processo de purificação. A representação esquemática do aparato utilizado é apresentada na Figura 5.

Figura 5 - Aparato experimental.



Fonte: Próprio autor.

### 3.4.1. Planejamento experimental $2^3$ - tempo, concentração de catalisador e temperatura

As condições reacionais foram definidas com base nos dados obtidos na literatura. A razão molar óleo:metanol foi fixada em 1:6, excesso estequiométrico para deslocar o equilíbrio no sentido da formação dos produtos. A frequência do ultrassom também foi fixada em 40 kHz, uma vez que o equipamento disponível não permite variar a frequência. Assim, foi realizada uma análise do efeito do tempo, da concentração de catalisador e da temperatura no rendimento da reação de transesterificação. Para este fim, foi usado um delineamento composto central considerando estas três variáveis independentes. A faixa de estudo do tempo foi de 2 a 6 horas, a temperatura foi de 35 a 45°C e a concentração de catalisador foi entre 5 e 10% (m/m). Os 2 níveis e as 3 variáveis independentes, determinados em base da literatura, estão apresentadas na Tabela 6.

Tabela 6 - Variáveis e níveis avaliados no planejamento experimental.

Variáveis	Unidade	Níveis		
		-1	0	1
<b>Temperatura (T)</b>	°C	35	40	45
<b>Concentração catalisador (C)</b>	%, m/m	5	7,5	10
<b>Tempo (t)</b>	horas	2	4	6

Fonte: Próprio autor.

No planejamento adotado com 3 variáveis, os 8 primeiros ensaios referem-se ao planejamento fatorial completo  $2^3$ , com níveis -1 e +1, com o objetivo de fornecer os parâmetros lineares (L) do modelo de regressão. Os 3 últimos ensaios referem-se à triplicata no ponto central, para avaliar o erro experimental do planejamento. Assim, o delineamento aplicado obteve um total de 11 experimentos, realizados em duplicata. A Tabela 7 apresenta a matriz do planejamento experimental.

Tabela 7 - Matriz Planejamento Experimental 2<sup>3</sup>.

<b>Ensaio</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Concentração catalisador (%, m/m)</b>	<b>Tempo (horas)</b>
<b>1</b>	-1	-1	-1
<b>2</b>	+1	-1	-1
<b>3</b>	-1	+1	-1
<b>4</b>	+1	+1	-1
<b>5</b>	-1	-1	+1
<b>6</b>	+1	-1	+1
<b>7</b>	-1	+1	+1
<b>8</b>	+1	+1	+1
<b>9</b>	0	0	0
<b>10</b>	0	0	0
<b>11</b>	0	0	0

Fonte: Próprio autor.

### 3.4.2. Purificação

Ao final de cada reação, o produto presente no tubo Falcon foi levado imediatamente para a centrífuga, afim de separar as fases. A amostra permaneceu durante 10 minutos a uma rotação constante de 300 RPM. Ao final do processo, dentre a mistura heterogênea, foi possível distinguir o glicerol, biodiesel com traços de metanol e o biocatalisador.

Após a separação de fases, a mistura de biodiesel e etanol foi retirada com auxílio de uma pipeta de pasteur de vidro, e transferida a um frasco reagente de vidro de 50 mL. Em seguida, as amostras foram expostas a uma temperatura de 90°C na estufa para evaporação do metanol presente. Para garantir a evaporação completa do solvente, as amostras foram pesadas de forma contínua, e na estabilização de peso, o produto foi retirado da câmara.

O biodiesel refinado de cada teste, oriundo do óleo da amêndoa da macaúba, obtido pelo processo de transesterificação com catálise enzimática assistida por ultrassom, foi encaminhado para o processo de resfriamento e posteriormente analisado por cromatografia gasosa.

### 3.4.3. Determinação do teor de ésteres metílicos

Dentre as ferramentas analíticas disponíveis para identificação e quantificação de compostos (incluindo os ácidos graxos) de uma amostra, pode-se destacar a Cromatografia Gasosa (GC). Trata-se de um processo físico-químico de separação dos constituintes entre a fase estacionária e a fase móvel (FARIA et al., 2007; JUROWSKI et al., 2017). As análises foram conduzidas no Departamento de Química da Faculdade de Ciência e Tecnologia da UNESP, campus de Presidente Prudente.

As amostras foram analisadas em cromatógrafo gasoso GC-2010 Shimadzu tendo como temperatura inicial da rampa de aquecimento de 50°C, aquecido a uma taxa de 15°/min até 250°C e mantido por 4 minutos. A coluna utilizada foi a 'RTx Wax' com 30 m de comprimento e 0,25 mm de diâmetro. A injeção de amostra foi de 1µL, no modo Split, a 180°C. Todas as análises foram realizadas em duplicata.

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1. Determinação da atividade enzimática

A lipase utilizada na execução desse trabalho foi a lipozyme RM IM, imobilizada, obtida do microrganismo *Rhizomucor miehei*. A determinação da atividade enzimática da lipase foi descrita na seção 3.2 e é apresentada na Tabela 8, de acordo com o ensaio realizado.

Tabela 8 - Média da determinação da atividade enzimática.

Contagem	Atividade ( $\mu\text{mol}/\text{mg}\cdot\text{min}$ )
1	0,02088
2	0,01662
3	0,00863
4	0,00600
5	0,03340

Fonte: Próprio autor.

O baixo valor obtido da atividade enzimática pode ser explicado pelo próprio processo de imobilização, que faz com que a enzima perca, em partes, sua característica inicial. Apesar de observar esta diminuição da atividade, as vantagens ao se utilizar uma lipase imobilizada, principalmente na etapa de purificação do biodiesel, justificam seu uso (ZHAO et al., 2015).

### 4.2. Óleo de macaúba

A análise dos resultados experimentais obtém informações das características do óleo da amêndoa da macaúba. A partir dessa determinação identifica-se a qualidade do óleo e do biodiesel produzido. No presente trabalho foram realizadas as análises de índice de acidez e da composição dos ácidos graxos.

#### 4.2.1. Análise do índice de acidez

A princípio todas as fontes de triacilglicerídeos podem ser empregadas como substrato para produção de biodiesel. Desse modo, as propriedades físico-químicas do óleo como teor de acidez, pode provocar interferência direta no bom rendimento do biodiesel (SANDER, 2018).

Independente da enzima empregada, a qualidade do óleo utilizado na reação de transesterificação é de suma importância, tendo em vista que inibidores catalíticos podem reduzir o rendimento da reação (SUAREZ et al., 2009). O índice de acidez do óleo da amêndoa de macaúba após a redução dos ácidos graxos livres pelo método da neutralização, é apresentado na Tabela 9.

Tabela 9 - Índice de acidez do óleo da amêndoa da macaúba.

<b>Parâmetro</b>	<b>Resultado</b>
<b>Índice de acidez</b>	3,49 mg de KOH/g

Fonte: Próprio autor.

O índice de acidez encontrado se enquadra as limites definidos por DE SOUZA RODRIGUES (2007), entre 1,7 - 24 mg de KOH/g. Em relação a MACHADO (2013) e (AMARAL, 2007) o índice encontrado foi menor, para os respectivos trabalhos foram encontrados índices de acidez de 19,25 mg de KOH/g e 12,8 mg de KOH/g, respectivamente.

#### 4.2.2. Análise dos ácidos graxos

A identificação da composição e concentração de ácidos graxos do óleo em relação ao tamanho de suas respectivas cadeias carbônicas, de C8:0, C10:0, C12:0, C14:0, C16:0, C18:0 e C18:1, foram determinadas pelo processo de cromatografia gasosa, descrita na seção 3.3.4. Os dados são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10 - Composição e concentração de ácidos graxos no óleo da amêndoa da macaúba.

<b>Ácidos graxos</b>	<b>Concentração (%)</b>
<b>Ácido Esteárico/Ácido Oleico C18:0/C18:1)</b>	30,24
<b>Ácido Palmítico (C16:0)</b>	7,16
<b>Ácido Mirístico (C14:0)</b>	9,3
<b>Ácido Láurico (C12:0)</b>	45,15
<b>Ácido Cáprico (C10:0)</b>	4,21
<b>Ácido Caprílico (C8:0)</b>	3,92

Fonte: Próprio autor.



As maiores proporções, assim como previstas por literatura (AMARAL, 2007; CETEC, 1983; FORTES; BAUGH, 2004; MACHADO, 2013), foram do ácido láurico seguido do ácido oleico e palmítico.

### 4.3. Resultados da reação de produção do biodiesel

#### 4.3.1. Planejamento experimental

O planejamento experimental 2<sup>3</sup> foi utilizado como ferramenta para o estudo e análise da importância das variáveis e suas combinações na reação de transesterificação. Os rendimentos em ésteres a partir da análise estatística do planejamento experimental, junto à determinação do índice de acidez referente a cada ensaio, são apresentados na Tabela 11.

A determinação do índice de acidez do biocombustível obtido se torna expressivo quando comparado ao índice de acidez inicial do óleo utilizado. A variação do parâmetro indica a conversão ou não de ésteres metílicos.

Tabela 11 - Matriz de resultados em ésteres e índice de acidez do planejamento experimental 2<sup>3</sup>.

<b>Ensaio</b>	<b>Temperatura (°C)</b>	<b>Catalisador (%, m/m)</b>	<b>Tempo (horas)</b>	<b>Rendimento ésteres (%)</b>	<b>V.A. (mg.KOH/g)</b>
<b>1</b>	-1	-1	-1	23,20	5,30
<b>2</b>	+1	-1	-1	30,80	5,40
<b>3</b>	-1	+1	-1	50,90	5,03
<b>4</b>	+1	+1	-1	32,40	5,04
<b>5</b>	-1	-1	+1	70,80	4,50
<b>6</b>	+1	-1	+1	78,40	5,04
<b>7</b>	-1	+1	+1	80,50	4,49
<b>8</b>	+1	+1	+1	85,40	4,36
<b>9</b>	0	0	0	50,70	4,77
<b>10</b>	0	0	0	51,30	4,09
<b>11</b>	0	0	0	50,80	4,20

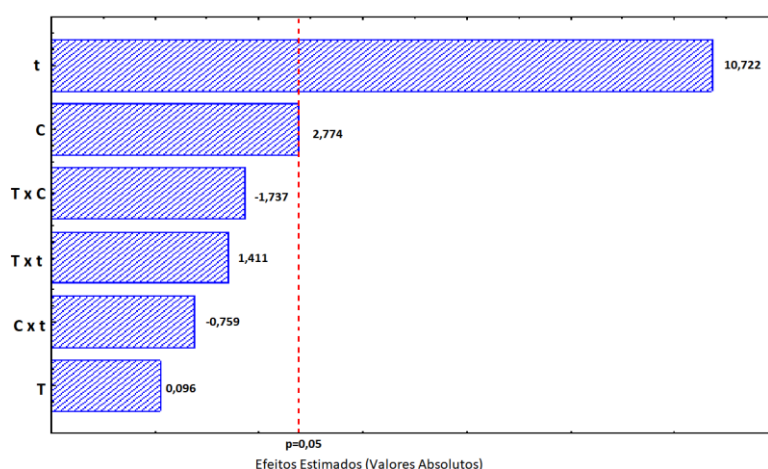
Fonte: Próprio autor.

No intervalo dos valores estudados, o ensaio com maior rendimento de ésteres foi o 8º, com 85,4% de conversão, os parâmetros para tal eficácia foram o tempo de 6 horas, a temperatura de 45°C e a concentração de biocatalisador próximo a 10% (m/m). Seguido do 7º e 6º testes, apresentando rendimento de 80,5% e 78,4%, respectivamente.

A partir da obtenção dos resultados, foi utilizado o *software Statistica 8.0* (StatSoft Inc., USA), afim de uma melhor análise do efeito de cada parâmetro na produção de ésteres etílicos. O nível de confiança adotado foi de 95%.

O gráfico de Pareto, apresentado na Figura 6, apresenta a estimativa dos efeitos lineares e a interação das variáveis independentes. À direita da linha pontilhada vermelha os efeitos das variáveis são considerados significativos, já à esquerda não significativos.

Figura 6 - Gráfico de Pareto.



Fonte: Próprio autor.

Dentre o intervalo considerado, a única variável que foi indicada como significativa é o tempo (t). Com relação ao efeito positivo do parâmetro, os resultados mostraram que quanto maior a duração da reação, maior o rendimento. Tal análise é observada nos ensaios 5, 6, 7 e 8. Trabalhos similares encontrados na literatura, visando a otimização da produção de biodiesel via catálise enzimática, também indicaram o tempo como parâmetro crucial para a melhor conversão de ésteres, como nos resultados obtidos por RAMAKRISHNAN *et al.* (2021), que obtiveram 94,5% de rendimento em 16 horas de reação.

A variável concentração de catalisador (C), dentre os limites estudados, apresentou uma baixa significância, ou seja, embora quanto maior a concentração de enzima na reação, maior o rendimento, seu grau de significância é de 1/5 em relação ao tempo (t), como observado na comparação entre os ensaios 1, 3 e 5.

Já a temperatura não apresenta significância dentre os níveis propostos, assim como observado na comparação entre a reação de transesterificação enzimática apresentada por YASVANTHRAJAN *et al.* (2021) e também na transesterificação via catálise enzimática apresentada por SENDZIKIENE; SANTARAITE; MAKAREVICIENE (2020), onde as temperaturas aplicadas foram 45°C e 25°C respectivamente, e ambos os processos apresentam conversão de ésteres 98,7%.

A Tabela 12 exhibe os coeficientes de cada variável estudada, seus erros padrões, valores dos efeitos e o valor de p. O único parâmetro estatisticamente significativo, o tempo (t), é destacado em negrito.

Tabela 12 - Coeficientes de regressão.

<b>Fator</b>	<b>Coefficiente de regressão</b>	<b>Erro padrão</b>	<b>t</b>	<b>p</b>
<b>Média</b>	55,0182	1,7676	31,0125	0,0001
<b>T</b>	0,2000	2,0727	0,0965	0,9278
<b>C</b>	5,7500	2,0727	2,7741	0,0501
<b>t</b>	<b>22,2250</b>	<b>2,0727</b>	<b>10,7225</b>	<b>0,0004</b>
<b>TxC</b>	-3,6000	2,0727	-1,7368	0,1574
<b>Txt</b>	2,9250	2,0727	1,4112	0,2310
<b>Cxt</b>	-1,5750	2,0727	-0,7599	0,4897

Fonte: Próprio autor.

A partir dos coeficientes de regressão obtém-se a equação do modelo estatístico que descreve o rendimento da produção de ésteres para os dados considerados significativos, ou seja, o tempo (t) de reação (Equação 3).

$$\text{Teor de ésteres metílicos} = 55,02 + 22,22 \cdot t \quad (3)$$

Para a validação do modelo experimental foi utilizado o teste F de Fisher. O F calculado (21,38) foi maior que o F Tabelado ( $F_{6,4} = 6,16$ ), certificando a validação. Já a relação do modelo com os dados experimentais pode ser conferida pelo coeficiente de determinação ( $R^2$ ). O valor do coeficiente de determinação foi de 0,97, ou seja, 97% das variações são explicadas pelo modelo, sendo capaz de ser utilizados para fins preditivos. O F calculado e a determinação do  $R^2$  são apresentados na análise de variância (ANOVA), na Tabela 13.

Tabela 13 - ANOVA para as médias em conversão de ésteres.

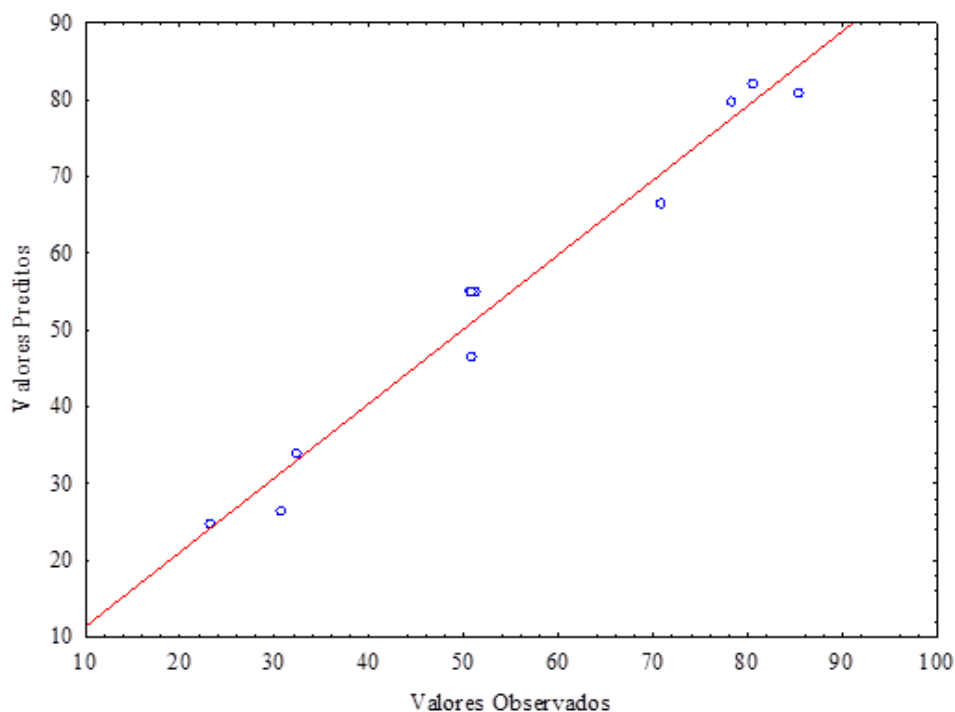
	Soma dos Quadrados	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	F <sub>cal</sub>
<b>Regressão</b>	4408,39	6	734,73	21,38
<b>Resíduos</b>	137,48	4	34,37	
<b>Total</b>	4545,88	10		

$$F_{\text{tab}} (6; 4; 0,95) = 6,16; R^2 = 0,969$$

Fonte: Próprio autor.

Outro método para demonstração da precisão do modelo é a utilização do gráfico de valores observados experimentalmente versus valores previstos. Quanto menor a dispersão, ou seja, quanto mais próximo da reta ( $y = x$ ), mais preciso é o modelo. A Figura 7 apresenta a comparação descrita.

Figura 7 - Valores observados x Valores preditos.



Fonte: Próprio autor.

A partir da Figura 7 é observável que os dados experimentais se ajustam ao do modelo durante todo o procedimento.

Com base nos resultados obtidos, onde é apresentado a conversão de ésteres metílico a partir dos parâmetros aplicados, é comprovado a validação do método para obtenção do

biodiesel. Alguns dos ensaios executados atingiram um rendimento superior a 80%, o que pode ser considerado regular/bom em relação aos parâmetros e técnicas utilizados. As melhores condições observadas dentre os cenários estudados são apresentadas na Tabela 14.

Tabela 14 - Melhores condições para os parâmetros utilizados

<b>Parâmetro</b>	<b>Nível adotado</b>
<b>Tempo de reação (t)</b>	6 horas
<b>Temperatura (T)</b>	45°C
<b>Concentração de catalisador (C)</b>	10%
<b>Razão Óleo:Metanol</b>	1:6

Fonte: Próprio autor.

Uma forma de validação do grau de relevância da porcentagem de conversão de ésteres metílicos é a comparação com trabalhos correlacionados. Como por exemplo, na comparação com o trabalho desenvolvido por DA SILVA (2018), onde a partir da reação de transesterificação com catálise enzimática otimizada, foi obtido 77,7% de conversão. Ou também, na comparação da também transesterificação enzimática, apresentada por RAMAKRISHNAN *et al.* (2021), que embora tenha apresentado uma conversão superior (92,46%), necessitou de um período de reação superior a 17 horas.

Em aspectos gerais, a determinação do índice de acidez do óleo da amêndoa de macaúba, a determinação de ácidos graxos na composição do óleo, o índice de acidez e a determinação da conversão de ésteres metílicos do biodiesel, pode promover uma evolução no estudo do biocombustível a partir da oleaginosa utilizada, como também na adoção de outras técnicas baseadas na catálise enzimática.

## 5. CONCLUSÃO

O presente trabalho de conclusão de curso teve como objetivo a produção do biodiesel oriundo do óleo da amêndoa da macaúba. O biocombustível proposto apresenta características relevantes para um contínuo estudo da viabilidade como alternativa na matriz energética brasileira. O biocombustível foi obtido por meio da reação de transesterificação enzimática assistida por ultrassom. O biocatalisador utilizado foi a lipase Lipozyme RM IM e o agente transesterificante foi o metanol. O tema da pesquisa está relacionado à necessidade energética de fontes com um menor impacto ambiental quando comparado às fontes de origem fóssil.

Além de um levantamento teórico, o presente trabalho também determinou o índice de acidez do óleo da amêndoa de macaúba, bem como a composição de ácidos graxos do triglicerídeo. O ácido láurico (C12:0) apresentou maior concentração na composição do óleo, enquanto o índice de acidez (3,49 mg de KOH/g) foi levemente inferior aos índices encontrados na literatura. Tal variação pode ser explicada pela possível desigualdade na captação, extração e conservação do óleo.

Dentre os limites propostos para a reação de transesterificação na produção do biodiesel, a maior taxa de rendimento de ésteres foi de 85,4%. Tal nível de conversão foi obtido em um processo com duração de 6 horas, na temperatura de 45°C, concentração de biocatalisador de 10% (m/m), uma razão molar de óleo:metanol de 1:6 e frequência de banho ultrassônico de 40kHz.

Em relação ao planejamento experimental adotado (2<sup>3</sup>), o tempo de reação foi o único parâmetro indicado como significativo dentro dos níveis adotados. A análise demonstrou que quanto maior o tempo maior o rendimento obtido na reação.

Em aspectos gerais, o biodiesel produzido a partir do óleo da amêndoa de macaúba, via catálise enzimática assistida por ultrassom, apresenta características promissoras para a continuidade de estudos e pesquisas.

### 5.1. Trabalhos Futuros

Como sugestão para trabalhos futuros, a adoção de uma maior duração de reação se torna crucial. Alguns trabalhos recentes já abordam tempos de reações superiores a 16 horas. Outra abordagem que pode resultar bons resultados é a substituição da lipase lipozyme RM IM.

Para alcance da disponibilidade do biodiesel oriundo do óleo da amêndoa de macaúba como alternativa energética viável, se torna necessária a completa caracterização físico-química

do biocombustível e do óleo matriz, assim como a padronização dos níveis estabelecidos pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).

## REFERÊNCIAS

ADRIANO, Josiney de Paiva Abreu; BASSOTTO, Leandro Carvalho. DESEMPENHO ENTRE MOTORES CICLO DIESEL : UTILIZAÇÃO DE ÓLEO DIESEL E BIODIESEL. **Revista Científica Interdisciplinar**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 171–217, 2021. Disponível em: <http://multiplosacessos.com/multaccess/index.php/multaccess/article/view/198/151>.

AMARAL, FABIANO PEREIRA DO. **ESTUDO DAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS ÓLEOS DA AMÊNDOA E POLPA DA MACAÚBA [Acrocomia aculeata (Jacq.) Lodd. ex Mart] FABIANO**. 2007. Unesp - Campus de Botucatu, [S. l.], 2007. Disponível em: <https://repositorio.unesp.br/handle/11449/90468>.

ANDREUCCI, Ricardo. Ensaio por ultrassom: Aspectos básicos. [S. l.], p. 103, 2014. Disponível em: [http://www.abendi.org.br/abendi/Upload/file/US\\_maio-2014\(1\).pdf%3E](http://www.abendi.org.br/abendi/Upload/file/US_maio-2014(1).pdf%3E).

ANGÉLICA, Juana; GONZÁLEZ, Cristian; VALDERRAMA, Alvaro; SILVA, Lígia de Nazaré Aguiar; MARQUES, Eliê Regina Fedel. Energias Renováveis : Fonte De Energia Limpa ? In: XI CONGRESSO BRASILEIRO DE GESTÃO AMBIENTAL 2020, Vitória/ES. **Anais [...]**. Vitória/ES p. 1–5.

**Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis: 2021**. . Rio de Janeiro. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/arquivos-anuario-estatistico-2021/anuario-2021.pdf>.

AVHAD, M. R.; MARCHETTI, J. M. A review on recent advancement in catalytic materials for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 50, p. 696–718, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2015.05.038. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.05.038>.

CAIRES, Kaique Vitor Louzada; SIMONELLI, George. Previsão da demanda brasileira de biodiesel utilizando redes neurais artificiais. **Research, Society and Development**, [S. l.], v. 2021, p. 1–14, 2021.

CARDOSO, Thayssa Sales; SANTOS, Ronald Almeida; COSTA, Rilder Tebias Toledo; AVIZ, Emanuel Oliveira; ARAÚJO, Josiney Farias; SILVA, Arlesson Pereira; FREITAS, Manolo Cleiton da Costa; CORREIA, Leandro Marques. Uma revisão da utilização de catalisadores heterogêneos para a produção de biodiesel. **Brazilian Applied Science Review**, [S. l.], v. 4, n. 1, p. 240–276, 2020. DOI: 10.34115/basrv4n1-016.

CÉSAR, Aldara Da Silva; ALMEIDA, Fabiano De Azedias; DE SOUZA, Raquel Pereira; SILVA, Gilmar Clemente; ATABANI, A. E. The prospects of using *Acrocomia aculeata* (macaúba) a non-edible biodiesel feedstock in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 49, p. 1213–1220, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2015.04.125. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2015.04.125>.

CETEC, Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais-. **Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais**. Belo Horizonte - MG. Disponível em: <http://bibliotecadigital.mg.gov.br/consulta/consultaDetalheDocumento.php?iCodDocumento=73657>.



COSTA, DANIEL ANISIO DO NASCIMENTO. ESTUDO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO DA MACAÚBA (*ACROCOMIA INTUMESCENS*). **UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOA**, [S. l.], 2016. Disponível em: [http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/1584/1/Estudo do processo de extração do óleo da Macaúba.pdf](http://www.repositorio.ufal.br/bitstream/riufal/1584/1/Estudo%20do%20processo%20de%20extração%20do%20óleo%20da%20Macaúba.pdf).

DA SILVA, MARINA SAVIOLLI REIS. ESTUDO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA. **CENTRO UNIVERSITÁRIO FEI MARINA**, [S. l.], p. 2018, 2018.

DE FREITAS, VITÓRIA OLAVE. AVALIAÇÃO DO USO DA TECNOLOGIA DE ULTRASSOM NA SÍNTESE ENZIMÁTICA DE ÉSTERES ETÍLICOS. **UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL ESCOLA**, [S. l.], 2018.

DE GODOY, Marcelo Andrade. ESTUDO DA LIPASE EVERSA® TRANSFORM 2.0 NAS FORMAS LIVRE E IMOBILIZADA E SUA APLICAÇÃO NA REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO DA TRIACETINA. **Universidade Federal de Viçosa**, [S. l.], 2019.

DE PAIVA, EDUARDO JOSE MENDES. Estudo da Produção de Biodiesel a partir de Óleo de Babaçu e Etanol utilizando a Transesterificação Alcalina Tradicional com Agitação Mecânica e Assistida por Ultrassons. **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**, [S. l.], 2010.

DE SOUZA RODRIGUES, Hugo. **Obtenção de ésteres etílicos e metílicos, por reações de transesterificação, a partir do óleo da palmeira latino americana macaúba – “Acrocomia aculeata”**. 2007. Universidade de São Paulo, [S. l.], 2007. Disponível em: <https://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/59/59138/tde-05062009-105511/publico/HugodeSouzaRodrigues.pdf>.

DENTI, Andressa Franco. Tecnologia enzimática: classificação, imobilização, suportes e aplicações. **Revista Perspectiva**, [S. l.], v. 45, n. 171, p. 97–110, 2021. DOI: 10.31512/persp.v.45.n.171.2021.168.p.97-110.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA. **Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020**. [s.l.] : EPE - Empresa de Pesquisa Energética, 2021. Disponível em: [https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03\\_Analise\\_de\\_Conjuntura\\_dos\\_Biocombustiveis\\_ano\\_2020.pdf](https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03_Analise_de_Conjuntura_dos_Biocombustiveis_ano_2020.pdf).

EVARISTO, Anderson Barbosa; GROSSI, José Antonio Saraiva; PIMENTEL, Leonardo Duarte; DE MELO GOULART, Samuel; MARTINS, Adalvan Daniel; DOS SANTOS, Vera Lúcia; MOTOIKE, Sergio. Harvest and post-harvest conditions influencing macauba (*Acrocomia aculeata*) oil quality attributes. **Industrial Crops and Products**, [S. l.], v. 85, p. 63–73, 2016. DOI: 10.1016/j.indcrop.2016.02.052. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.052>.

FARIA, Rita C. M.; REZENDE, Michelle J. C.; REZENDE, Claudia M.; PINTO, Angelo C. DESENVOLVIMENTO E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA DE ANÁLISE DE MISTURAS BIODIESEL:DIESEL UTILIZANDO CROMATOGRAFIA GASOSA-

ESPECTROMETRIA DE MASSAS. **Química Nova**, [S. l.], v. 30, n. 8, p. 1900–1905, 2007. DOI: 10.1590/s0100-40422007000800020.

FORTES, I. C. P.; BAUGH, P. J. Pyrolysis – GC / MS studies of vegetable oils from Macauba fruit. [S. l.], v. 72, p. 103–111, 2004. DOI: 10.1016/j.jaap.2004.03.005.

FURLANI, Izadora L.; AMARAL, Bruno S.; OLIVEIRA, Regina V.; CASSA, Quezia B. IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA: CONCEITO E EFEITOS NA PROTEÓLISE. **Química Nova**, [S. l.], v. 43, n. 4, p. 463–473, 2020. DOI: 10.21577/0100-4042.20170525. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.21577/0100-4042.20170525>.

GEISSE, Sonia Montecinos; ARANEDA, Danilo Carvajal. **ENERGÍAS RENOVABLES: ESCENARIO ACTUAL Y PERSPECTIVAS FUTURAS**. La Serena: Editorial Universidad de La Serena, 2018. v. 1 Disponível em: <https://editorial.userena.cl/wp-content/uploads/2019/08/energias-renovables-Completo-01-08-20.pdf>.

**GLOBAL STATUS REPORT RENEWABLES 2021**. Paris, france: REN 21, 2021. Disponível em: <https://www.ren21.net/reports/global-status-report/>.

GÓES, Guilherme Sandoval. **A geopolítica da Energia no século XXI**. 1. ed. Rio de Janeiro: Synergia, 2021.

HOEGH-GULDBERG, O., D. JACOB, M. TAYLOR, M. BINDI, S. BROWN, I. CAMILLONI, A. DIEDHIOU, R. DJALANTE, K.L. EBI, F. Engelbrecht; J.GUIOT, Y. HIJOKA, S. MEHROTRA, A. PAYNE, S.I. SENEVIRATNE, A. THOMAS, R. WARREN, And G. Zhou. Impacts of 1.5°C Global Warming on Natural and Human Systems. *In: **Special Report, Intergovernmental Panel on Climate Change***. [s.l: s.n.]. p. 175–181. Disponível em: [http://report.ipcc.ch/sr15/pdf/sr15\\_chapter3.pdf](http://report.ipcc.ch/sr15/pdf/sr15_chapter3.pdf).

JARDINE, José Gilberto; DISPATO, Ivanilde; PERES, Mariana Rodrigues. Considerações sobre Biodiesel como Biocombustíveis Alternativo ao Diesel. **Embrapa Informática Agropecuária**, [S. l.], n. 1677–9274, 2009.

JUROWSKI, Kamil; KOCHAN, Kamila; WALCZAK, Justyna; BARAŃSKA, Małgorzata; PIEKOSZEWSKI, Wojciech; BUSZEWSKI, Bogusław. Analytical Techniques in Lipidomics: State of the Art. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, [S. l.], v. 47, n. 5, p. 418–437, 2017. DOI: 10.1080/10408347.2017.1310613.

LAM, Man Kee; LEE, Keat Teong; MOHAMED, Abdul Rahman. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 500–518, 2010. DOI: 10.1016/j.biotechadv.2010.03.002. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.03.002>.

LIMA, Francisco Cleudio Aguiar. PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO DE MACAÚBA USANDO COMO CATALISADOR ÓXIDO MISTO DE ALUMÍNIO E ESTANHO. **Universidade de Brasília**, [S. l.], 2018.

LOBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa; CRUZ, Rosenira Serpa Da. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 1596–

1608, 2009. DOI: 10.1590/S0100-40422009000600044.

LORENZI, G. M. A. C.; NEGRELLE, R. R. B. *Acrocomia aculeata* (JACQ.) LODD. EX MART.: ASPECTOS ECOLÓGICOS, USOS E POTENCIALIDADES *Acrocomia*. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 7, n. 1, p. 12, 2006. DOI: 10.5380/acd.v7i1.9021.

LV, Liangliang; DAI, Lingmei; DU, Wei; LIU, Dehua. Progress in enzymatic biodiesel production and commercialization. **Processes**, [S. l.], v. 9, n. 2, p. 1–10, 2021. DOI: 10.3390/pr9020355. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2227-9717/9/2/355>.

MACHADO, Sara Aparecida. Estudo da produção de biodiesel a partir do óleo de macaúba (*Acrocomia aculeata*) pela rota etífica. **UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO ESCOLA**, [S. l.], p. 130, 2013.

MASSALLI, Fábio. **Governo reduz temporariamente porcentagem de biodiesel no óleo diesel**. 2021. Disponível em: <https://agenciabrasil.ebc.com.br/economia/noticia/2021-09/governo-reduz-temporariamente-porcentagem-de-biodiesel-no-oleo-diesel>. Acesso em: 13 dez. 2021.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; BRITO, Y. C. Transesterification, some applications and biodiesel production. **Revista Virtual de Química**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 63–73, 2013. DOI: 10.5935/1984-6835.20130007.

NOBRE, Danúbia Aparecida Costa; TROGELLO, Emerson; BORGHETTI, Renato Antônio; DAVID, Andréia Márcia Santos de Souza. MACAÚBA (*Acrocomia aculeata*): PALMEIRA DE EXTRAÇÃO SUSTENTÁVEL PARA BIOCOMBUSTÍVEL. **Colloquium Agrariae**, [S. l.], v. 10, n. 2, p. 92–105, 2015. Disponível em: <https://journal.unoeste.br/index.php/ca/article/view/934>.

OLIVEIRA, Pâmella de Assunção. PRODUÇÃO DE BIODIESEL ASSISTIDA POR ULTRASSOM NAS FREQUÊNCIAS DE 1 MHZ E 3 MHZ. **Instituto Nacional de Metrologia, Qualidade e Tecnologia – Inmetro**, [S. l.], 2018.

RAMAKRISHNAN, Vegneshwaran V.; DAVE, Deepika; LIU, Yi; ROUTRAY, Winny; MURPHY, Wade. Statistical optimization of biodiesel production from salmon oil via enzymatic transesterification: Investigation of the effects of various operational parameters. **Processes**, [S. l.], v. 9, n. 4, p. 7–9, 2021. DOI: 10.3390/pr9040700.

RAMOS, Luiz Pereira; KUCEK, Karla Thomas; DOMINGOS, Anderson Kurunzi; WILHELM, Helena Maria. Biodiesel - Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento - Edição nº 31**, [S. l.], p. 28–37, 2003.

ROCHA, YARA LINS. **ESTUDO DA CATÁLISE ENZIMÁTICA PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE ÓLEO RESIDUAL DE ANDIROBA (*Carapa guianensis* Aubl.)**. 2018. UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS, [S. l.], 2018. Disponível em: [https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/6888/8/Dissertacao\\_YaraRocha.pdf](https://tede.ufam.edu.br/bitstream/tede/6888/8/Dissertacao_YaraRocha.pdf).

RODRIGUES, Artur Saturnino. **INVENTÁRIO DO CICLO DE VIDA DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL UTILIZANDO MACAÚBA COMO FONTE DE MATÉRIA-PRIMA**.

2021. UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI, [S. l.], 2021. Disponível em: <http://acervo.ufvjm.edu.br/jspui/handle/1/2662>.

SANDER, R. F. **Síntese enzimática heterogênea do biodiesel a partir do óleo de pinhão manso**. 2018. Universidade Estadual Paulista, [S. l.], 2018.

SANTIN, Claudia M. T.; MICHELIN, Simone; SCHERER, Robison P.; VALÉRIO, Alessandra; LUCCIO, Marco Di; OLIVEIRA, Débora; OLIVEIRA, J. Vladimir. Comparison of macauba and soybean oils as substrates for the enzymatic biodiesel production in ultrasound-assisted system. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S. l.], v. 35, p. 525–528, 2017. a. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.10.024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.10.024>.

SANTIN, Claudia M. T.; MICHELIN, Simone; SCHERER, Robison P.; VALÉRIO, Alessandra; LUCCIO, Marco Di; OLIVEIRA, Débora; OLIVEIRA, J. Vladimir. Comparison of macauba and soybean oils as substrates for the enzymatic biodiesel production in ultrasound-assisted system Santin, C. M. T., Michelin, S., Scherer, R. P., Valério, A., Luccio, M. di, Oliveira, D., & Oliveira, J. V. (2017). Comparison of maca. **Ultrasonics Sonochemistry**, [S. l.], v. 35, p. 525–528, 2017. b. DOI: 10.1016/j.ultsonch.2016.10.024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.10.024>.

SENDZIKIENE, Egle; SANTARAITE, Migle; MAKAREVICIENE, Violeta. Lipase-catalysed in situ transesterification of waste rapeseed oil to produce diesel-biodiesel blends. **Processes**, [S. l.], v. 8, n. 9, p. 1–13, 2020. DOI: 10.3390/PR8091118.

SOARES, Cleide M. F.; DE CASTRO, Heizir F.; DE MORAES, Flávio F.; ZANIN, Gisella M. Characterization and Utilization of Candida rugosa Lipase Immobilized on Controlled Pore Silica. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, [S. l.], v. 79, n. 1–3, p. 745–758, 1999. DOI: 10.1385/ABAB:79:1-3:745. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1385/ABAB:79:1-3:745>.

SUAREZ, Paulo A. Z.; SANTOS, Andre L. F.; RODRIGUES, Juliana P.; ALVES, Melquizedeque B. Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: Desafios tecnológicos para viabilizá-los. **Química Nova**, [S. l.], v. 32, n. 3, p. 768–775, 2009.

TELES, Héria de Freitas; PIRES, Larissa Leandro; GARCIA, José; ROSA, Juliano Queiroz Santana; FARIAS, João Gaspar; NAVES, Ronaldo Veloso. Ambientes de ocorrência natural de macaúba. **Pesq. Agropec. Trop.**, [S. l.], v. 41, n. 4, p. 595–601, 2011. Disponível em: [www.agro.ufg.br/pat](http://www.agro.ufg.br/pat).

VEIGA, Edison. **Em melhor cenário, temperatura global pode subir 1,5°C em duas décadas, diz IPCC | CNN Brasil**. 2021. Disponível em: <https://www.cnnbrasil.com.br/internacional/em-melhor-cenario-temperatura-global-pode-subir-1-5c-em-duas-decadas-diz-ipcc/>. Acesso em: 26 nov. 2021.

VIEIRA, Inês Sofia Almeida. **PRODUÇÃO DE LÍPIDOS DIETÉTICOS, A PARTIR DE ÓLEO DE ARGÃO E ÓLEO DE GRAMINHA DE UVA POR CATALISE ENZIMÁTICA**. 2018. Universidade de Lisboa, [S. l.], 2018. Disponível em: [https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/15865/1/Tese\\_VersãoFinal.pdf](https://www.repository.utl.pt/bitstream/10400.5/15865/1/Tese_VersãoFinal.pdf).

VIEIRA, José Sebastião C.; SOUSA, Taís L.; ROSAS, Luzilene S.; LIMA, Ana L.; RONCONI, Célia M.; MOTA, Cláudio J. A. Esterificação E Transesterificação Homogênea De Óleos Vegetais Contendo Alto Teor De Ácidos Graxos Livres. **Química Nova**, [S. l.], v. 41, n. 1, p. 10–16, 2018. DOI: 10.21577/0100-4042.20170148.

YASVANTHRAJAN, Natarajan; SIVAKUMAR, Pandian; MUTHUKUMAR, Karuppan; MURUGESAN, Thanabalan; ARUNAGIRI, Appusamy. Production of biodiesel from waste bio-oil through ultrasound assisted transesterification using immobilized lipase. **Environmental Technology and Innovation**, [S. l.], v. 21, p. 101199, 2021. DOI: 10.1016/j.eti.2020.101199. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101199>.

ZHAO, Xuebing; QI, Feng; YUAN, Chongli; DU, Wei; LIU, Dehua. Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S. l.], v. 44, p. 182–197, 2015. DOI: 10.1016/j.rser.2014.12.021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.021>.