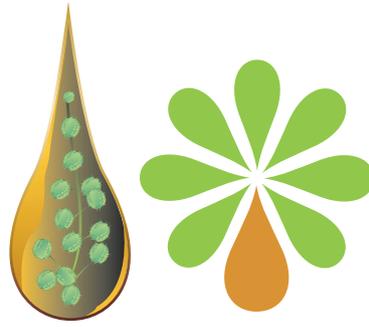


ISBN 978-85-65615-02-0



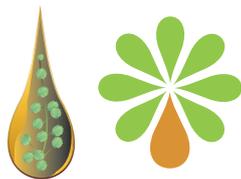
6° Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel  
9° Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

# BIODIESEL: 10 ANOS DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO NO BRASIL



**VOLUME 2**

**ANAIS - ARTIGOS CIENTÍFICOS  
2016**



6° Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel  
9° Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

**BIODIESEL:**  
**10 ANOS DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO NO BRASIL**  
**Anais - Trabalhos Científicos**

**Editores:**

**Pedro Castro Neto**

**Antônio Carlos Fraga**

**Rafael Silva Menezes**

**Gustavo de Lima Ramos**

**Natal, 22 a 25 de Novembro de 2016**

**Rio Grande do Norte - Brasil**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel  
(6. : 2016 : Natal, RN).

Anais do 6. Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia  
de Biodiesel, 9. Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas,  
Óleos, Gorduras e Biodiesel, Natal, RN, 22 a 25 de novembro  
de 2016 / Editores: Pedro Castro Neto ... [et al.]. – Lavras :  
UFLA, 2016.

1432 p.

Bibliografias

ISBN 978-85-65615-02-0

1. Biodiesel. 2. Plantas oleaginosas. 3. óleos vegetais. I

Castro Neto, Pedro et al. II. Congresso Brasileiro de Plantas  
Oleaginosas, óleos, Gorduras e Biodiesel.

CDD – 633.85

## APRESENTAÇÃO

O Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) possui papel fundamental no processo de aprimoramento tecnológico do biodiesel brasileiro. No âmbito do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), o módulo de Desenvolvimento Tecnológico é coordenado pelo MCTIC e objetiva organizar e fomentar a base tecnológica existente no País e norteá-la a gerar resultados que atendam às demandas do PNPB.

Nesse sentido, foi implantada a Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel (RBTB), que articula os diversos atores envolvidos, permitindo a convergência de esforços e a otimização de investimentos públicos na busca por soluções para os desafios tecnológicos da cadeia produtiva, levando em consideração aspectos de sustentabilidade, geração de empregos e desenvolvimento regional.

Como ferramenta de avaliação e divulgação dos resultados dos projetos fomentados, o MCTIC promove, desde 2006, o Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel e a Universidade Federal de Lavras promove, desde 2004, o Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel. Eventos que em suas edições anteriores foram um sucesso, tanto em termos de público, como na divulgação do conhecimento gerado por pesquisadores de inúmeras universidades e institutos de pesquisa de todo o país. A partir de 2010 esses dois eventos foram realizados simultaneamente constituindo o maior evento técnico científico em biodiesel do mundo. Este evento é referência para as áreas de produção de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel.

## APRESENTAÇÃO

É estratégico para o setor de biodiesel possuir fóruns de discussão para se debater temas ligados à pesquisa, desenvolvimento e inovação em Biodiesel, como também promover encontros entre especialistas, estudantes, empresários e a sociedade civil para discutir meios para o desenvolvimento desse novo combustível.

Para o evento deste ano os organizadores receberam 884 trabalhos, dos quais 715 foram aprovados e serão expostos nas sessões de apresentação de pôster. Foram destacados trabalhos que também serão apresentados oralmente nas sessões temáticas. Busca-se atingir com a divulgação dos Anais do evento a difusão do conhecimento gerado, servindo como base para a continuidade das ações e como motivação para que a inovação tecnológica contribua de forma efetiva para os objetivos do PNPB.

Cordialmente,

Professor Pedro Castro Neto  
**Presidente do Congresso**

Professor Antônio Carlos Fraga  
**Presidente da Comissão Técnico-Científica**

Rafael Silva Menezes  
**Coordenador de ações de  
desenvolvimento  
energético RBTB-MCTIC**

## COMISSÃO ORGANIZADORA

Pedro Castro Neto  
**Presidente do Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas,  
Óleos, Gorduras e Biodiesel**

Rafael Silva Menezes  
**Presidente do Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia  
de Biodiesel**

Gustavo de Lima Ramos  
**Secretário-Geral**

Antônio Carlos Fraga  
**Presidente da Comissão Técnico-Científica**

Juliana Espada Lichston  
**Presidente da Comissão Local da UFRN**

Rafael Peron Castro  
Anderson Lopes Fontes  
**Secretários Comissão Local da UFRN**

## COMISSÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Antônio Carlos Fraga (UFLA) - Presidente

Pedro Castro Neto (UFLA) - Vice-Presidente

Lucas Ambrosano (UEM) - Secretário

Geovani Marques Laurindo (G-Óleo/UFLA) - Secretário

Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (G-Óleo/UFLA) - Secretário

### MEMBROS DAS ÁREAS TEMÁTICAS

Aristeu Gomes Tininis (IFSP)

Bill Jorge Costa (TECPAR)

Bruno Galvêas Laviola (EMBRAPA)

Cláudio José de Araujo Mota (UFRJ)

Danilo Luiz Flumignan (IFSP)

Donato Alexandre Gomes Aranda (UFRJ)

Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (INT)

Fátima Menezes Bento (UFRGS)

Gustavo Lima Ramos (SETEC/MCTIC)

Iêda Maria Garcia dos Santos (UFPB)

Luiz Pereira Ramos (UFPR)

Maria Aparecida Ferreira César-Oliveira (UFPR)

Nelson Roberto Antoniosi Filho (UFG)

Paulo Anselmo Ziani Suarez (UnB)

Rafael Silva Menezes (SETEC/MCTIC)

Roberto Bianchini Derner (UFSC)

Rosenira Serpa da Cruz (UESC)

Sérgio Peres Ramos da Silva (UPE)

Simoni Margaretta Plentz Meneghetti (UFAL)

## COMISSÃO EXECUTORA

Associação dos  
Pesquisadores em Plantas Oleaginosas,  
Óleos, Gorduras e Biodiesel



Rede Brasileira de  
Tecnologia de Biodiesel

SECRETARIA DE  
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
E INOVAÇÃO

MINISTÉRIO DA  
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,  
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



## REVISÃO E EDITORAÇÃO

Pedro Castro Neto (UFLA)  
Antônio Carlos Fraga (UFLA)  
Lucas Ambrosano (UEM)  
Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (G-Óleo/UFLA)  
Geovani Marques Laurindo (G-Óleo/UFLA)

## COMISSÃO DE TECNOLOGIA DA INFORMAÇÃO

Pedro Castro Neto (UFLA) - Presidente  
Antônio Carlos Fraga (UFLA)  
Gilson Miranda Júnior (BCC/UFLA)  
Jaime Daniel Corrêa Mendes (BCC/UFLA)  
João Paulo de Araújo (BCC / G-Óleo/UFLA)  
Ferguson Antônio Gomes Peres de Souza (G-Óleo/UFLA)  
Henrique Fidencio (G-Óleo/UFLA)  
Arnon de Castro Oliveira (G-Óleo/UFLA)  
Saulo Kirchmaier Teixeira (G-Óleo/UFLA)

## AGRADECIMENTOS

Apoiadores, Autores, Congressistas, Expositores e Palestrantes.

# MEMBROS DA G-ÓLEO

Associação dos Pesquisadores em Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

Pedro Castro Neto (Presidente)  
Lucas Ambrosano (Vice-Presidente)  
Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (Tesoureiro)  
Vinícius Reis Bastos Martins (Secretário)  
Antônio Carlos Fraga  
Arnon de Castro oliveira  
Bárbara Lemes  
Camilla Freitas Maia  
Camilo José Rodrigues Dal Bó  
Carlos Henrique Santos Fonseca  
Carlúcio Queiroz Santos  
Clara de Almeida Filippo  
Daniel Augusto de Souza Borges  
Danilo da Silva Souza  
Diego Flausino Brasileiro  
Erika Tokuda  
Ferguson Antonio Gomes Peres de Souza  
Gabriel Dlouhy Alcon  
Gabriele de Faria Castro  
Geovani Marques Laurindo  
Gilson Miranda Júnior  
Guilherme de Oliveira Martins  
Gustavo de Almeida Adolpho  
Hamilton Olinto Pimenta Lima Junior  
Henrique Fidencio  
Jaime Daniel Corrêa Mendes  
Janice Alvarenga Santos Fraga  
João Paulo de Araújo  
Julia Andrade de Ávila  
Juliana de Xisto Silva  
Maraiza Assis Mattar Silva  
Marcela Santos Moreira  
Matheus Sterzo Nilsson  
Paulo Rogério Ribeiro Pereira  
Pedro Henrique Barcelos Mota  
Pedro Rodolfo Bianchim de Oliveira  
Rafael Peron Castro  
Rodrigo Martins Santos  
Sandra Regina Peron Castro  
Sandro Freire de Araújo  
Saulo Kirchmaier Teixeira  
Stênio Carvalho  
Thalita Caroline Azevedo Gonçalves  
Thiago Matioli  
Vitor Favareto Silva

## REALIZAÇÃO

O Núcleo de Estudos em Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biocombustíveis (G-Óleo) idealizado pelos professores Antônio Carlos Fraga



do Departamento de Agricultura e Pedro Castro Neto do Departamento de Engenharia da Universidade Federal de Lavras, desde 2006 promove a

produção científica e realiza eventos acadêmicos voltados a estudantes, pesquisadores e empreendedores que atuam nas diversas etapas da cadeia produtiva do biodiesel, transferindo ao produtor rural por meio de eventos de extensão, onde inovações da pesquisa e indústria são levadas e apresentadas à comunidade.

A diversidade das áreas de atuação do grupo torna os projetos amplamente diversificados, englobando atividades em fitotecnia, química, projetos e manutenção de máquinas agrícolas e industriais, gerência e tecnologia de informação, administração, extração e purificação de óleos e gorduras, gestão de coprodutos e resíduos, todas associadas à produção científica visando inovação para a indústria e melhoria na produção rural.

## REALIZAÇÃO

Com o objetivo de impulsionar o desenvolvimento tecnológico e a inovação do biodiesel no Brasil, o Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) promove diversas ações, principalmente por meio da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel (RBTB), que envolve diversos atores da cadeia produtiva. Isso permite a convergência de esforços e a otimização de investimentos públicos, buscando soluções para os desafios tecnológicos do setor. Desde 2006, a Secretaria de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (SETEC/MCTIC) promove o Congresso da RBTB com objetivo de disseminar os conhecimentos tecnológicos gerados, a divulgação das potencialidades da Rede, as competências e os trabalhos em andamento. A realização do evento envolve a comunidade científica e empresarial e abrange sete diferentes áreas temáticas: Matéria Prima; Armazenamento, Estabilidade e Problemas Associados; Caracterização e Controle da Qualidade; Co-Produtos; Produção do Biocombustível; Uso de Biodiesel; e Políticas Públicas e Desenvolvimento Sustentável.

Rede Brasileira de Tecnologia de

**BioDiesel**



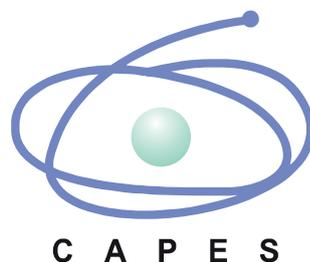
REALIZAÇÃO

SECRETARIA DE  
**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO  
E INOVAÇÃO**

MINISTÉRIO DA  
**CIÊNCIA, TECNOLOGIA,  
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES**



## APOIO





6º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel  
9º Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

# TRABALHOS CIENTÍFICOS APROVADOS

## Natureza dos metabólitos produzidos durante a degradação da mistura B10 com diferentes teores de enxofre

Aline Oliboni de Azambuja (LAB-BIO/UFRGS, alineoliboni@gmail.com), Juciana Clarice Cazarolli (LAB-BIO/UFRGS, jucianacazarolli@gmail.com); Vincent Bonifay (BC/OU Vincent.Bonifay-1@ou.edu); Jan Arne Sunner (BC/OU jan.sunner-1@ou.edu); Iwona Boguslavia Beech (BC/OU, ibeech@ou.edu); Fátima Menezes Bento (LAB-BIO/UFRGS, fatima.bento@ufrgs.br)

**Palavras Chave:** mistura B10, metabolômica, biodegradação, teores de enxofre, microrganismos, ácidos graxos.

### 1 - Introdução

Os combustíveis armazenados, especialmente o biodiesel e misturas, quando estocados por longos períodos, sem uma rotina rígida de “Boas Práticas”, ficam mais suscetíveis a formação de água livre e consequente degradação química e biológica com graves implicações para os mercados de distribuição e usuários finais<sup>1</sup>. A fase aquosa é o principal meio onde os microrganismos se desenvolvem e secretam os metabólitos que são produtos das atividades de degradação<sup>2</sup>.

De uma forma geral, a degradação aeróbia de alifáticos, (maior grupo estrutural do diesel), inicia com a oxidação metil terminal para um álcool primário, que é oxidado a um aldeído e a seguir a um ácido graxo. Os ácidos graxos são degradados via  $\beta$ -oxidação ou são utilizados pelas células para a construção das biomoléculas<sup>3</sup>. Na biodegradação do biodiesel, as enzimas microbianas lipases e esterases fazem a clivagem do metil ou etil éster resultando em um ácido graxo e um álcool associado, sendo os ácidos graxos incorporados às células microbianas por processos de  $\beta$ -oxidação<sup>4</sup>. Assim, independe do tipo de combustível, no processo de degradação, ocorrerá a conversão da molécula substrato em ácidos graxos, e por essa razão, as rotas metabólicas de lipídeos representam uma importante informação relacionada ao metabolismo de biossíntese e degradação de ácidos graxos.

Os metabólitos funcionam como uma “impressão digital” biológica em resposta as variações ambientais, permitindo uma melhor compreensão das atividades de microbianas. O combustível brasileiro, nos últimos dez anos, sofreu importantes alterações quando a redução dos teores de enxofre no diesel<sup>5</sup> e adição de quantidades crescentes de biodiesel formando a atual<sup>6</sup> mistura B7 com diesel S10/S500, instigando como será o comportamento dessa mistura em termos de estabilidade. O objetivo desse estudo foi a verificar o perfil de grupos de metabólitos, presentes na fase aquosa, indicativos da degradação microbiana da mistura B10 com diferentes teores de enxofre em condições de armazenamento simulado por 40 dias.

### 2 - Material e Métodos

Os combustíveis utilizados para compor a mistura B10 foram: biodiesel metílico de soja e sebo bovino (75:25) e óleo diesel A com três diferentes concentrações de enxofre: até 10 ppm S (S10), até 500 ppm S (S500) e até 1800 ppm S (S1800), fornecidos pela Ipiranga produtos de Petróleo S/A.

O experimento de estocagem simulada foi realizado em triplicata com frascos de vidro (100 mL). O

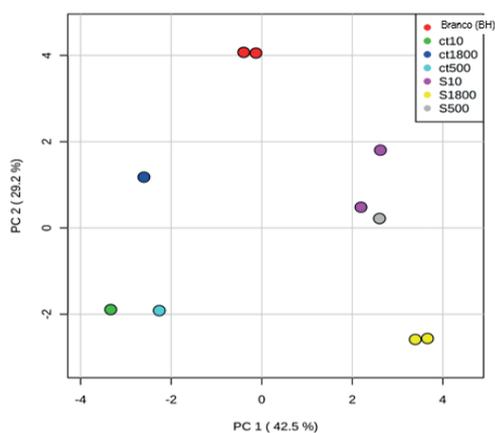
microcosmos foi composto de uma fase oleosa (20 mL) estéril contendo a mistura B10 S10, S500 e S1800 e uma fase aquosa (10 mL), com o meio mineral Bushnell-Haas (BH)<sup>7</sup> estéril, simulando a água de drenagem. Um inóculo microbiano não caracterizado (ASTM 1259-10), proveniente de tanques de estocagem de diesel e misturas de biodiesel foi adicionado ao microcosmos numa concentração aproximada de  $10^6$  cel/esp mL<sup>-1</sup>. O tratamento controle foi composto pelas mesmas condições do microcosmos, mas sem a adição do inóculo microbiano. Os frascos foram armazenados em estufa a 30 °C por 40 dias. Após esse período, as triplicatas da fase aquosa foram misturadas e formadas uma amostra composta para cada tratamento. As amostras foram acidificadas com HCl 4N, submetidas a extração da fase orgânica (2 x), com etil acetato, e secas com constante evaporação (N<sub>2</sub>), sendo os resíduos ressuspensos em 100  $\mu$ L de isopropanol.

Para verificar a biodegradação do biodiesel foram investigados metabólitos relacionados com o metabolismo de lipídeos que fossem significativamente diferentes dos controles (estéril) e do meio mineral BH (branco). As análises foram realizadas no sistema UPLC/ Q-ToF/MS. Os dados brutos foram processados usando IDEOM versão 19, comparados com os metabólitos da base de dados KEGG e as rotas metabólicas usando o aplicativo Pathos. As análises estatísticas incluíram a Análise do Componente Principal (PCA) e um valor p de 0,05 para determinar a significativa alteração na abundância relativa dos prováveis metabólitos entre os tratamentos e controles/ branco utilizando *MetaboAnalyst* (3.0).

### 3 - Resultados e Discussão

Na PCA foi possível verificar que todos os tratamentos foram agrupados diferentemente dos controles (estéril) e do branco, representado pelo meio mineral BH (tempo zero) ao final de 40 dias (Figura 1). Esses resultados evidenciam a produção de diferentes metabólitos pelos distintos teores de enxofre, comparados aos controles e branco.

Em relação ao metabolismo de lipídeos, foram identificadas cinco rotas metabólicas: biossíntese de ácidos graxos, biossíntese de ácidos graxos insaturados, metabolismo do ácido  $\alpha$ -linolênico, metabolismo do ácido  $\alpha$ -araquidônico e metabolismo do ácido linolênico. Na Tabela 1 pode ser visualizado o número de prováveis metabólitos detectados nas amostras de fase água da mistura B10 S10, S500 e S1800 e que estão relacionadas à ativação das referidas rotas.



**Figura 1.** Análise do Componente Principal (PCA) para a produção de metabólitos microbianos relacionados ao metabolismo de lipídeos, presentes na fase aquosa da mistura B10 com diferentes teores de enxofre, após 40 dias de avaliação.

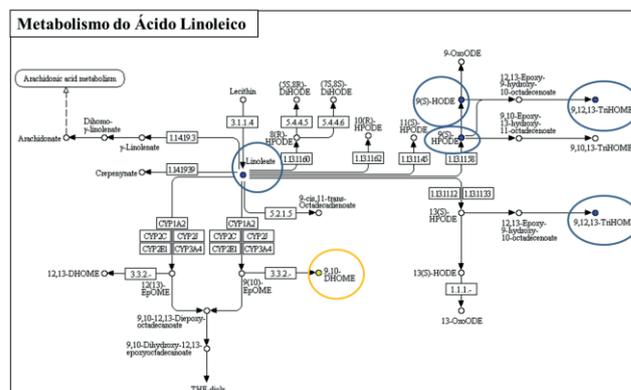
A mistura B10 S10 teve o maior número de prováveis metabólitos detectados nas rotas de biossíntese de ácidos graxos insaturados e metabolismo do ácido  $\alpha$ -araquidônico.

**Tabela 1.** Rotas metabólicas de lipídeos, detectados na fase aquosa da mistura B10 com diferentes teores de enxofre, após 40 dias de avaliação.

Rotas metabólicas de lipídeos	Mistura B10		
	S10	S500	S1800
1. Biossíntese de ácidos graxos	8/11*	8/11	6/11
2. Biossíntese de ácidos graxos insaturados	10/49	8/49	9/49
3. Metabolismo do ácido $\alpha$ -linolênico	9/39	9/39	9/39
4. Metabolismo do ácido $\alpha$ -araquidônico	9/74	7/74	8/74
5. Metabolismo do ácido linoleico	5/25	5/25	5/25

\*Número de prováveis metabólitos identificados nas amostras/Número de metabólitos participantes da rota metabólica pela base de dados KEGG.

Na rota metabólica referente ao metabolismo do ácido linoleico (C18:2) (Ácido *cis, cis* -9,12-octadecadienoico), foram detectados cinco prováveis compostos que atuam na ativação da rota. Entre eles, Linoleato (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>2</sub>); 9(S)-HODE (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>3</sub>); 9(S)-HPODE (C<sub>18</sub>H<sub>32</sub>O<sub>4</sub>); e 9,12,13-TriHOME (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>5</sub>) apresentaram abundância relativa 10 vezes superior nos tratamentos comparados aos controles e branco ( $p < 0,05$ ) e estão representados em azul na Figura 2. O composto 9,10-DHOME (C<sub>18</sub>H<sub>34</sub>O<sub>4</sub>), em amarelo, teve a abundância relativa igual aos controles e branco ( $p < 0,05$ ). A parcial migração dos ésteres metílicos da fase oleosa para a fase aquosa já foi reportada na literatura<sup>8</sup> e a degradação abiótica também contribuem para esse fenômeno. No entanto, nesse trabalho, as evidências apontam para a degradação de origem microbiana em função da elevada quantidade de compostos oriundos da mistura B10 com diferentes teores de enxofre em relação aos controles/branco após 40 dias de avaliação.



**Figura 2.** Rota metabólica do ácido linoleico (Ácido *cis, cis* -9,12-octadecadienoico) e metabólitos responsáveis pela sua ativação encontrados nas amostras da fase aquosa da mistura B10 S10, S500 e S1800, controles e branco (meio BH) após 40 dias de avaliação. Círculos em azul - prováveis metabólitos detectados com abundância relativa 10 x superior aos controles/branco. Círculo em amarelo - provável metabólito detectado na mesma proporção entre tratamentos e controles/branco.

O ácido linoleico é o ácido graxo mais abundante (~ 52 %) presente no biodiesel a base de soja<sup>2</sup>. Na degradação microbiana, os ácidos graxos são intermediários formados durante o metabolismo de alcanos (diesel) ou a partir da hidrólise de ésteres metílicos (biodiesel) e consequente  $\beta$ -oxidação formando uma série de resíduos com dois átomos de carbonos a menos que o precursor<sup>9</sup>. A presença do linoleato (Figura 2), como provável metabólito da rota do ácido linoleico, sugere a ideia de produto de degradação ou do metabolismo microbiano para a mistura B10 S10, S500 e S1800. Resultados semelhantes também foram obtidos por Viera et al. (2006)<sup>10</sup>.

#### 4 – Conclusões

Nosso estudo revelou importantes rotas metabólicas e prováveis metabólitos relacionados a degradação de ácidos graxos que podem auxiliar na compreensão da biodegradação microbiana e estabilidade da mistura B10 especialmente durante a estocagem.

#### 5 – Agradecimentos

O financiamento desse projeto foi concedido pelo CNPq (Edital 40-2013 do Biodiesel); Recursos do *Office of Naval Research* (N62909-14-1-N18) nos EUA e CAPES com a bolsa-sanduíche. Agradecemos a Ipiranga Produtos de Petróleo S/A pelo fornecimento dos combustíveis e suporte técnico.

#### 6 - Bibliografia

- Bento, F.M.; *Revista Biodiesel* **2010**, 47, 14.
- Passman, J.F.; *Biodeterior Biodegrad* **2012**, 81.
- Yemashova, N. A.; *Rev Environ Sci Biotechnol* **2007**, 6.
- Zhang, X.; *T Am Soc Agr Eng* **1998**, 41.
- Resolução ANP nº 50, de 23.12.2013 - DOU 24.12.2013
- Lei 13.263 - DOU 24.03.2016
- Bushnell L.D.; *J. Bacteriol* **1941**, 41.
- Cazarolli, J.C.; *Biodeterior Biodegrad* **2014**, 95.
- Aktas, D.F.; *Energ Fuel* **2010**, 24.
- Vieira, T.M.; Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel. Artigos técnico-científico. Brasília-DF: 1 (2006).