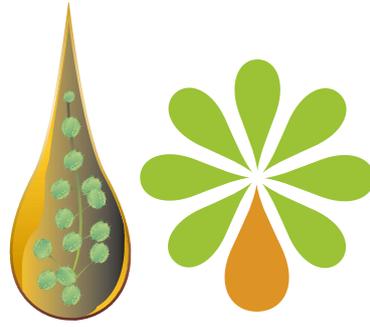


ISBN 978-85-65615-02-0



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 Matiulli
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.



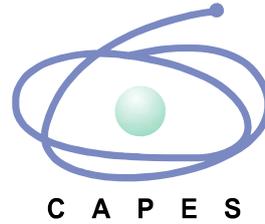
REALIZAÇÃO

SECRETARIA DE
**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
E INOVAÇÃO**

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



APOIO





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

**TRABALHOS
CIENTÍFICOS
APROVADOS**

Produção do éster de biodiesel catalisada por lipases fúngicas obtidas a partir das folhas da mamona (*Ricinus Communis L.*, *Euphorbiaceae*)

Cíntia Kruger (BRA/UNIOESTE, cintia.kruger@hotmail.com), Maria Luiza Fernandes Rodrigues (BRA/UNIOESTE, mlmfernandes@hotmail.com), Aline Awadallak (BRA/UNIOESTE, aline_awadallak@hotmail.com), Leonardo Pedranjo (BRA/UNIOESTE, lpedranjo@gmail.com), Rafaella Wandscheer Raimundo (BRA/UNIOESTE, rafawandscheer@gmail.com), Bruna Thais Stuani (BRA/UNIOESTE, brunatstuani@gmail.com), Monique Gabriely Vanzin da Silva, (BRA/UNIOESTE, monique_gabriely94@hotmail.com)

Palavras Chave: fungos endofíticos, catalisador enzimático, oleato de etila

1 - Introdução

O biodiesel é um biocombustível biodegradável, atóxico, livre de enxofre e aromáticos, com um ponto de ebulição superior ao do diesel, e que pode ser obtido tanto por reações de transesterificação quanto a partir de reações de esterificação de ácidos graxos catalisada por ácidos.

As lipases são enzimas que atuam na quebra de lipídeos e óleos, liberando ácidos graxos, monoacilgliceróis, digliceróis e glicerol. Do ponto de vista industrial, as lipases fúngicas são muito valorizadas, pois as enzimas produzidas por fungos são geralmente extracelulares, o que facilita sua retirada do meio fermentado por filtração.

A fermentação no estado sólido (FES) tem sido utilizada para o crescimento de fungos filamentosos e para obtenção das enzimas extracelulares, produzidas pelos mesmos. Em geral, na FES são utilizados substratos sólidos, muitos sendo resíduos agroindustriais, e a umidade geralmente não ultrapassa 70%.

O Oleato de etila é produzido pela reação de esterificação do ácido oléico e etanol, produzindo o oleato de etila (éster etílico de ácido graxo) e água. Além destas aplicações, os ésteres etílicos são compostos de grande importância industrial, também na composição de biocombustíveis, como é o caso do biodiesel. O oleato de etila, estudado neste trabalho, pode ser utilizado como aditivo biológico, plastificante do policloreto de vinila (PVC), agente resistente à água e como fluido hidráulico. O objetivo deste trabalho foi realizar os estudos sobre a síntese do oleato de etila catalisada por lipases fúngicas em fermentação em estado sólido pelo fungo *Penicillium sumatrense*, isolado das folhas da mamona (*Ricinus communis L.*).

2 - Material e Métodos

O fungo endofítico *Penicillium sumatrense* isolado das folhas de mamona (*Ricinus communis L.*, *Euphorbiaceae*) foi utilizado neste trabalho. As cepas foram inoculadas em meio ágar batata (BDA) contendo o antibiótico cloridrato de tetraciclina (250 mg/L) e incubadas por 10 dias a 28°C, fazendo-se repiques semestrais e após o crescimento foram mantidas sob refrigeração (4°C). As lipases fúngicas de *Penicillium sumatrense* utilizadas nas reações de esterificação foram produzidas por Fermentação no Estado Sólido (FES), conforme metodologia descrita por Fernandes (2007), sendo utilizado como substrato a torta de crambe (*crambe*

abyssinica hochst), fornecida pela indústria Fundação MS-Mato Grosso do Sul, pois possui alto teor lipídico.

Após o preparo, os substratos foram esterilizados em autoclave e inoculados com uma solução de esporos do fungo endofítico. Posteriormente, os sólidos foram incubados em estufa a 27°C durante 96 h. Para a dosagem da atividade enzimática, preparou-se uma emulsão, contendo solução tampão fosfato 50 mM pH 7,0, goma arábica 10% e pelo substrato óleo de oliva (1,0 mM ou 7,15 % m/v). O pH da emulsão foi medido e corrigido para 7,0 (com NaOH 50 mM).

O ensaio foi realizado em triplicata em erlenmeyers de 125 mL, adicionando-se 20 mL da emulsão e 1,0 g do sólido fermentado, contendo a enzima. As amostras foram incubadas em *Shaker*, sob agitação, por 20 min., a 37 °C. A reação foi paralisada adicionando-se 20 mL de solução de etanol/acetona (1:1 v/v). Os ácidos graxos liberados foram titulados em solução de NaOH (50mM) até pH próximo de 10. Foi preparado um branco reacional adicionando-se a solução de paralisação junto ao meio reacional no tempo zero.

Para a síntese de oleato de etila, adicionou-se em Erlenmeyers de 125 mL, 10 mL do meio reacional, composto por ácido oléico e etanol numa razão de 1:9 (50 mM de ácido oléico e 450 mM de etanol). Em cada Erlenmeyer adicionou-se o sólido fermentado, correspondente a 60 U de atividade enzimática (enzima imobilizada no sólido fermentado). Os materiais foram incubados em shaker à 30° C sob 180 rpm de agitação por 96 h.

Para determinar a conversão de ácido graxo em éster, adicionou-se 0,2 mL do meio de reação em frascos já contendo 2,4 mL de tolueno e 0,5 mL de acetato cobre em piridina (5%). As reações foram agitadas em Vórtex durante 30 seg. e a fase orgânica lida em espectrofotômetro a 715 nm. As amostras do meio reacional foram coletadas no tempo 0 h e a cada 24 h. Os experimentos foram realizados em triplicatas.

3 - Resultados e Discussão

A partir das análises realizadas, observou-se que ocorreu a conversão dos ácidos graxos em ésteres (oleato de etila). A porcentagem da conversão foi crescente até 72 h de reação, onde se observou um pico máximo de 83,08% de conversão, e em seguida, a conversão tornou-se estacionária e decrescente, como pode ser observado na Figura 1. Este resultado demonstrou que estes biocatalisadores são capazes de realizar a reação de síntese de um dos ésteres do biodiesel.

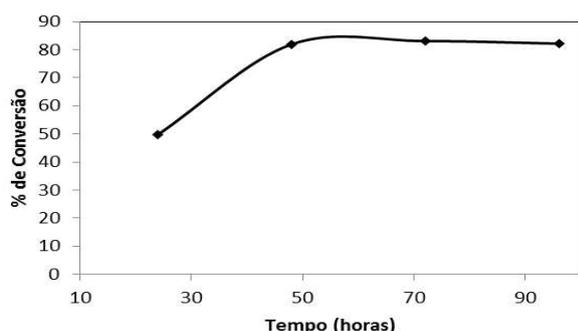


Figura 1 - Gráfico das porcentagens de conversão do ácido graxo em 24, 48, 72 e 96 h de reação de esterificação do ácido oleico e etanol, para a formação do oleato de etila, catalisada pela lipase fúngica de *Penicillium sumatrense*.

O fungo utilizado neste trabalho, já demonstrou em trabalhos anteriores de Bettencourt & Rodrigues que é capaz de produzir lipase extracelular com a atividade de 9,65 U/gSS ou 96,5 U, após 72 h de FES, utilizando-se o substrato de girassol.

Os autores Oliveira *et al.* observaram melhores resultados na FES comparada com a Fermentação Submersa (FSm), utilizando o meio contendo farelo de trigo, para o crescimento de fungo *Penicillium sp.* e produção de amilases.

O tempo da conversão máxima obtida neste trabalho (72 h), assemelha-se ao que Oliveira *et al.*, observaram na formação do éster acetato de isoamila, utilizando a lipase também produzida no processo de FES pelo *Penicillium sp.*, com os substratos de semente de gergelim e resíduos de erva-mate.

Em uma pesquisa realizada por Oliveira *et al.* (2011), foram testadas quatro formas diferentes de enzimas imobilizadas na síntese de oleato de etila e também da enzima livre, e o melhor resultado foi de 86% de conversão com a enzima imobilizada sobre a sílica, resultado similar ao encontrado no suporte utilizado neste trabalho.

No setor industrial, as reações de esterificação e transesterificação são de suma importância, pois são gerados diversos produtos industriais de interesse. Ainda são utilizados muitos catalizadores químicos nessas reações, o que leva a traços indesejáveis como a presença de resíduos de ácido ou base no produto, e, além disso, o processo químico necessita do emprego de temperaturas relativamente altas o que não só aumenta o custo de produção como também pode levar à degradação do éster produzido.

Os principais constituintes do biodiesel são os ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, como os oleatos, palmitatos e linolenatos. O oleato de etila foi produzido neste trabalho. Na reação de esterificação entre o ácido oléico e o metanol obtém-se como produtos o éster e água.

4 – Conclusões

O processo da FES é viável para a produção da lipase a partir do fungo *Penicillium sumatrense*, conforme demonstrado pelos resultados obtidos. Estes biocatalisadores são capazes de realizar a síntese de ésteres de biodiesel, como o oleato de etila, para um posterior emprego na síntese de biodiesel.

5 – Agradecimentos

A Unioeste e a CNPQ pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de mestrado.

6 - Bibliografia

- ¹Binod, P., Pandey, A., Sindhu, R. *Chemical and Biochemical Engineering*, **2015**, 173–181, 4.
- ²Fernandes, M.L.M. *Produção de lipases por fermentação no estado sólido e sua utilização em biocatálise*. Tese de Doutorado, Programa de pós-graduação em Química Orgânica, Universidade Federal do Paraná. **2007**.
- ³Malajovich, M. A. *Biotechnologia*. Rio de Janeiro. Axcel Books.(2004).
- ⁴Zenebon, O., Pascuet, N.S., Tiglea, P. *Métodos físico-químicos para análise de alimentos*. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz. (2008)
- ⁵Oliveira, A.C.D., Watanabe, F.M.F., Vargas, J.V.C., Mariano, A.B., Rodrigues, M.L.F. Comparação entre Fermentação no Estado Sólido e Fermentação Submersa para produção de A-Amilases por *Penicillium sp.* e caracterização da enzima. *Revista eletrônica: Biotecnologia, Biotecnologia e Saúde*, **2011**.
- ⁶Silva, G.S., Inoue, F.Y., Dors, G., Junior, A.F., Castro, H.F. Desempenho de diferentes lipases imobilizadas na síntese de biodiesel de óleo de palma. *Acta Scientiarum Technology* **2011**, 197–203, 33.
- ⁷Tweddell, R. J., Kermasha, S., Combes, D., Marty, A. (1998). Esterification and Interesterification Activities of Lipases from *Rhizopus niveus* and *Mucor miehei* in Three Different Types of Organic Media: A Comparative Study. *Enzyme and microbial technology* **1998**, 439-445, 22.