



**VII CONGRESSO**

da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de

**Biodiesel**

Empreendedorismo e Inovação: Construindo um Futuro Competitivo para o Biodiesel

**04 a 07 de novembro de 2019**

Costão do Santinho Resort,  
**Florianópolis – SC**

**ANAIS**



Ficha Catalográfica: Maria José Ribeiro Betetto CRB 9/1.596

Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel (7.: 2019: Florianópolis SC).

Resumos do 7º Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel, 04 a 07 de novembro de 2019 Florianópolis SC. / (Org.). Bruno Galvêas Laviola; Rafael Silva Menezes; Eduardo Soriano Lousada – Florianópolis SC: Costão do Santinho, 2019.

Disponível em: <https://www.congressobiodiesel.com.br/>

Encontro realizado nos dias 04 a 07 novembro de 2019, com o tema: “Empreendedorismo e inovação: construindo um futuro competitivo para o biodiesel”.

1. Bioeconomia. 2. Energia renovável. 3. Bicomcombustível. I. Laviola, Bruno Galvêas. II. Menezes, Rafael Silva. III. Lousada, Eduardo Soriano. IV. Título.

CDD: 633.85

# **COMISSÃO ORGANIZADORA**

## **COORDENAÇÃO GERAL**

Bruno Galvêas Laviola (Embrapa Agroenergia)

Rafael Silva Menezes (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e  
Comunicações)

Eduardo Soriano Lousada (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e  
Comunicações)

Guy de Capdeville (Embrapa Agroenergia)

Roberto Bianchini Derner (Universidade Federal de Santa Catarina)

Pedro Castro Neto (Universidade Federal de Lavras)

## **SECRETARIA EXECUTIVA E DE COMUNICAÇÃO**

Patrícia Dias Barbosa (Embrapa Agroenergia)

Lilian Matheus Silva (Embrapa Agroenergia)

Daniela Collares (Embrapa Agroenergia)

Gustavo de Lima Ramos (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e  
Comunicações)

Daiana Bisognin Lopes (FB Eventos)

Aline Amorim Reis Correa Machado (Embrapa Agroenergia)

Leandro Santos Lobo (Embrapa Agronegia)

André Scofano Maia Porto (Embrapa Agroenergia)

## **COMISSÃO CIENTÍFICA**

### **HIDROCARBONETOS RENOVÁVEIS E BIOQUEROSENE**

Amanda Duarte Gondim (UFRN)

Nataly Albuquerque dos Santos (UFPB)

Carmen Luisa Barbosa Guedes (Universidade Estadual de Londrina)

### **MATÉRIAS-PRIMAS**

Antonio Carlos Fraga (UFLA)

Juliana Espada Lichston (UFRN)

Erina Vitório Rodrigues (UnB)

Letícia Jungmann Cançado (Embrapa Agroenergia)

Leo Duc Haa Carson Schwartzaupt da Conceição (Embrapa Cerrados)

Sérgio Delmar dos Anjos e Silva (Embrapa Clima Temperado)

Jorge Alberto de Gouvêa (Embrapa Trigo)

Humberto Ubelino de Sousa (Embrapa Meio Norte)

Cesar de Castro (Embrapa Soja)

Fábio Pinto Gomes (Universidade Estadual de Santa Cruz)

Marcelo Fidelis Braga (Embrapa Cerrados)

Maíra Milani (Embrapa Algodão)

## **PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Paulo Anselmo Ziani Suarez (UNB)

Simoni Margaretti Plentz Meneghetti (UFAL)

Donato Gomes Aranda (UFRJ)

Luiz Pereira Ramos (UFPR)

Rosenira Serpa da Cruz (UESC)

Thais Salum (Embrapa Agroenergia)

## **CARACTERIZAÇÃO E CONTROLE DE QUALIDADE**

Nelson Roberto Antoniosi Filho (UFG)

Simone Favaro (Embrapa Agroenergia)

Danilo Luiz Flumignan (IFMT)

## **ARMAZENAMENTO, ESTABILIDADE E PROBLEMAS ASSOCIADOS**

Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (INT)

Iêda Maria Garcia dos Santos (UFPB)

Fátima Menezes Bento (UFRGS)

Maria Aparecida Ferreira César-Oliveira (UFPR)

## **COPRODUTOS E BIOPRODUTOS**

Cláudio José de Araújo Mota (UFRJ)

Sérgio Peres Ramos da Silva (UPE)

Simone Mendonça (Embrapa Agroenergia)

Félix Gonçalves de Siqueira (Embrapa Agroenergia)

João Ricardo Moreira de Almeida (Embrapa Agroenergia)

Silvia Belém Gonçalves (Embrapa Agroenergia)

Monica Caraméz Triches Damaso (Embrapa Agroenergia)

## **USO DE BIODIESEL**

Itânia Soares (Embrapa Agroenergia)

Aristeu Gomes Tininis (IFSP)

## **POLÍTICAS PÚBLICAS E DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL**

Expedito José de Sá Parente Júnior (UFC)

Rosana Guiducci (Embrapa Agroenergia)

Alexandre Cardoso (Embrapa Agroenergia)

Gilmar Souza Santos (Embrapa Mandioca e Fruticultura)

Rafael Silva Menezes (Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e  
Comunicações)

## APRESENTAÇÃO

Este volume contém os resumos dos trabalhos técnico-científicos apresentados no VII Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel, realizado na cidade de Florianópolis - SC, de 04 a 07 de novembro de 2019, no Costão do Santinho Resort.

Promovido pela Rede Brasileira de Tecnologia e Inovação de Biodiesel e realizado pelo Ministério da Ciência, tecnologia, Inovações e Comunicações e Embrapa, a sétima edição do congresso traz como tema principal “Empreendedorismo e inovação: construindo um futuro competitivo para o biodiesel”. O evento tem, entre seus objetivos, promover a discussão sobre pesquisa, desenvolvimento e inovação na produção e no uso do Biodiesel além de abordar e incentivar o empreendedorismo no setor de Biodiesel.

Ao todo, foram aprovados 560 trabalhos científicos, assim distribuídos nas temáticas: Hidrocarbonetos Renováveis e Bioquerosene, matérias-primas, Produção de biodiesel, Caracterização e controle de qualidade, Armazenamento, Estabilidade e Problemas Associados, Coprodutos e bioprodutos, Uso de Biodiesel e Políticas públicas e desenvolvimento sustentável. O número significativo, assim como a qualidade dos trabalhos apresentados, permite discutir amplamente o tema central escolhido para nortear o evento.

Novamente agradecemos a cada congressista, patrocinadores e apoiadores que juntos contribuíram para o sucesso deste evento.

Os participantes tiveram a oportunidade de trocar informações com os diversos profissionais que ministraram as palestras e com colegas que trabalham com agentes de controle biológico de pragas e doenças no Brasil e em outras partes do mundo.

Foram apresentados 450 resumos de trabalhos em formato poster, abordando 11 áreas temáticas. Estes resumos estão publicados neste documento.

Mais uma vez agradecemos a todos os participantes, patrocinadores, palestrantes e comissão organizadora, que não mediram esforços e dedicação para que esta edição fosse um sucesso.

**Comissão Organizadora do Evento**



## Valorização de co-produto da cadeia do biodiesel: Extração de peroxidase da casca da soja

Anelize Felício Ramos (UDESC, ane.felicio93@gmail.com), Franciane Batista (UDESC, batistafran@hotmail.com), Leonardo Antônio Fernandes (UDESC, leonardo.antonioff@gmail.com), Anderson Albino Gomes (UDESC, andersonalbino.g@gmail.com), Bruna Andersen (UDESC, bruna.jesus@edu.udesc.br), Mylena Fernandes, (UFSC, mylena.fernandes@gmail.com) Everton Skoronski (UDESC, everton.skoronski@udesc.br), Maria de Lourdes Borba Magalhães (UDESC, maria.magalhaes@udesc.br) e Gustavo Felipe da Silva (UDESC, gustavo.silva@udesc.br).

**Palavras Chave:** Enzimas., *horseradish peroxidase (HRP)*, Resíduos vegetais.

### 1 - Introdução

O biodiesel além de um caráter mercadológico possui base social e ambiental, sendo considerado uma fonte energética renovável com diversificação de matérias primas e de meios de produção. A valorização dos co-produtos da cadeia produtiva do biodiesel fortalece o caráter sustentável e agrega valor com inovações empreendedoras no uso de resíduos vegetais oriundos do processamento da matéria prima. Das matérias primas utilizadas, o óleo de soja (*Glycine max L.*) destaca-se na produção industrial, em dezembro de 2018 equivalente a 67,75% na produção nacional de biodiesel (ANP,2018).

Dos subprodutos gerados na indústria da soja, a casca da soja corresponde certa 2% da massa total do grão. Este tegumento é obtido previamente por separação, durante o processo de extração do óleo, em descascadores com batedores ou facas giratórias, os cotilédones são separados por peneiras vibratórias e insuflação de ar. Este subproduto, geralmente é destinado para alimentar as caldeiras, como complemento ao ajuste do teor de proteína do farelo ou comercializadas. O mercado das cascas, emprega-se principalmente como suplemento para ração animal, mas pode ter outros fins energético e na produção de novos materiais, como produção de etanol 2G, microfibrilas, fibra dietética, produção de medicamentos, ou ainda na exploração do uso da peroxidase extraída da casca, em aplicações com maior valor agregado como uso no mercado diagnóstico (Ferrer et al. 2016; Silva, et al. 2019).

A produção de enzimas a partir de resíduos agroindústrias é uma alternativa para a redução de custos na produção de biocatalisadores. A soja é considerada uma rica fonte de peroxidase, e devido a grande versatilidade da soja no mercado mundial, é uma alternativa de extração de baixo custo (SILVA et al., 2013). A peroxidase da casca da soja (SBP) é uma heme proteína, capaz de oxidar várias substâncias fenólicas e amidas aromáticas. Tem estrutura similar a *horseradish peroxidase (HRP)* a peroxidase mais estudada e utilizada atualmente, com grande aplicação em processos de biorremediação no tratamento de águas residuárias, biocatalises, e considerada uma commodity de maior valor quando aplicada em teste diagnósticos, como o teste de ELIZA, sistemas de detecção de DNA e produção de medicamentos quando purificada ou em conjunções distintas em peroxidases recombinantes na engenharia protéica (Steevensz, 2013; Wang et al., 2017; Wu et al. 2017).

A uso de enzimas em técnicas analíticas é abrangente, e buscando relacionar o uso de extrato vegetais como fonte de enzimas, une a seletividade da reação enzimática com a redução do custo do reagente, o que em

comparação à enzimas comerciais é uma combinação vantajosa (Bueno e Pereira, 2015). Com o aumento da demanda de biodiesel em misturas ao diesel, a geração de resíduos e co-produtos também aumenta. Assim sendo a seleção, caracterização e transformação química destes resíduos, contribui ambiental e economicamente.

O objetivo deste trabalho foi extrair e purificar a peroxidase da casca de soja, para em trabalhos futuros caracterizar e empregá-la em teste imunodiagnóstico.

### 2 - Material e Métodos

O cultivar de soja selecionado para o teste foi cedido pelo laboratório de sementes (CAV- UDESC), registrado como NA5909RG.

Realizou-se teste de coloração com o 3,3', 5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB), para verificar a presença da enzima peroxidase da soja (SBP).

A extração foi realizada na proporção de 14ml de tampão TRIS a 20mM com pH 7.6 para cada 1g de soja. Sob agitação mecânica em *shaker* por 2 horas. O produto da extração foi filtrado para retirada das cascas, centrifugado por 15 minutos a 18.000 rpm para a retirada de pequenas partículas, e filtrado em membrana Millipore a fim de ser purificado.

A peroxidase foi purificada por cromatografia de troca iônica no sistema de cromatografia Äkta™ pure (GE Healthcare) com coluna aniônica Hitrap Q FF. *Software Unicorn 7.1*. A amostra foi injetada (1ml) com sistema previamente equilibrado com tampão A (TRIS 20mM pH 7.6). A proteína foi eluída da coluna utilizando tampão B (TRIS 20mM + NaCl 1M pH 7.6). A otimização do processo, ocorreu com diferentes concentrações de tampão de eluição utilizando gradiente linear e *steps* da concentração.

As frações de amostra purificada foram concentradas em coluna de concentração Amicon, centrifugando a 4.500 RCF por 15 minutos. E foi realizada a quantificação de proteína em espectrofotômetro NanoDrop.

A técnica de eletroforese desnaturante foi realizada para análise dos extratos protéicos. As amostras foram separadas por SDS/PAGE com 12% (v/v) acrilamida/bis-acrilamida e gel de concentração com 4% de poli(acrilamida).

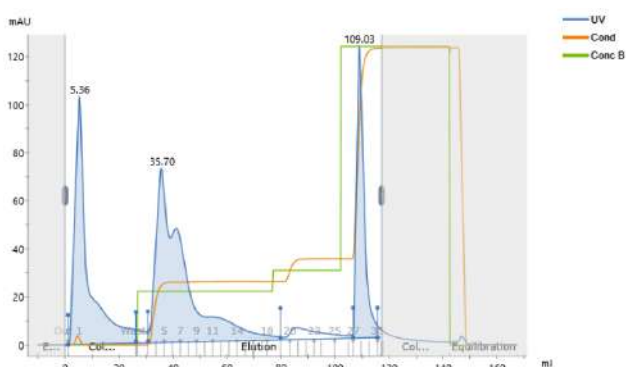
### 3 - Resultados e Discussão

O cultivar apresentou reação positiva em reação com o 3,3', 5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB), indicando a presença da enzima peroxidase da soja (SBP).

A extração da peroxidase ocorreu de forma satisfatória obtendo-se uma solução com concentração de 4,219 mg/ml de proteínas em tampão A.

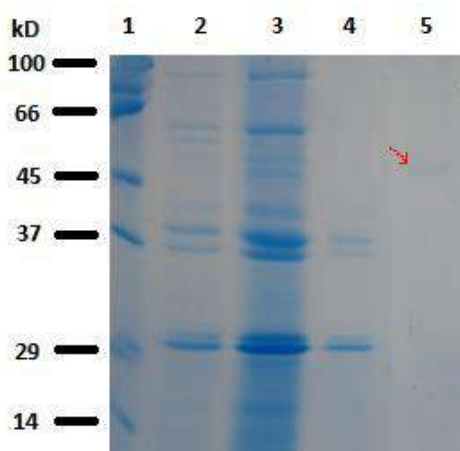
Em resultado do processo de otimização, obteve-se que as melhores condições para purificar esta proteína nestas especificações foram três steps com concentração do tampão de 18,25 e 100 para 10, 5 e 3 volumes de coluna respectivamente.

Na figura 1, o pico correspondente a frações 19-24 apresentaram reação com o TMB, indicando a presença da peroxidase.



**Figura 1.** Cromatograma referente a purificação da peroxidase em Äkta pure.

As frações amostrais também foram verificadas em gel de poliácridamida, constatando a purificação da enzima (figura 2).



**Figura 2.** Teste de expressão e purificação da peroxidase, tendo respectivamente 1- marcador, 2- extrato bruto, 3- extrato bruto concentrado, 4- flow through da purificação, 5- peroxidase.

A peroxidase apresentou-se em aproximadamente 45kD. A concentração do extrato bruto para purificação não diferenciou-se, e a fração não absorvida (flow through) apresenta-se com proteínas com peso molecular abaixo de 37kD.

#### 4 – Conclusões

A presença da enzima peroxidase na casca da soja foi significativa, subsidiando a agregação de valor ao co-produto residual da extração do óleo de soja, e valorizando a cadeia produtiva do biodiesel. Com relação a metodologia

utilizada para a purificação, constatou-se que os parâmetros escolhidos mostraram-se eficientes. Em perspectivas, em próximos trabalhos, pretende-se aumentar a escala de extração e purificação e aplicar a enzima extraída em teste imunodiagnósticos.

#### 5 – Agradecimentos

UDESC.

#### 6 - Bibliografia

- ANP. Resolução ANP nº 17/2004 e Resolução ANP nº 734/2018 **2018**.
- BUENO, N. G.; PEREIRA, A. V. Spectrophotometric determination of methyl dopa in a dissolution test of tablets using an extract of radish as a source of peroxidase. *Química Nova* **2015**, 38, 8, 1107-1111.
- FERRER, A.; SALAS, C.; ROJAS, O. J. Physical, thermal, chemical and rheological characterization of cellulosic microfibrils and microparticles produced from soybean hulls. *Industrial Crops and Products* **2016**, 84, 337–343.
- SILVA, F.M.; PEDROZA, M.M.; DE OLIVEIRA, L.R.A.; COLEN, A.G.N.; DO AMARAL, P.H.B. Rotas tecnológicas empregadas no aproveitamento de resíduos da indústria da soja. *Revista Brasileira de Energias Renováveis* **2019**, 8, 1, 326- 363.
- SILVA, M. C.; TORRES, J. A.; VASCONCELOS DE SÁ, L. R.; CHAGAS, P. M. B.; FERREIRA-LEITÃO, V. S.; CORRÊA, A. D. The use of soybean peroxidase in the decolorization of Remazol Brilliant Blue R and toxicological evaluation of its degradation products. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* **2013**, 89, 122–129.
- STEEVENSZ, A; MADUR, S; MOUSA, AL-ANSARI, M. A simple lab-scale extraction of soybean hull peroxidase shows wide variation among cultivars. *Industrial Crops and Products* **2013**, 48, 13–18.
- WANG, C.; LUO, X.; JIA, Z.; SHI, Q.; ZHU, R. Horseradish peroxidase immobilized on copper surfaces and applications in selective electrocatalysis of p - dihydroxybenzene. *Applied Surface Science* **2017**, 406, 170–177.
- WU, G.-W.; SHEN, Y.-M.; SHI, X.-Q.; DENG, H.-H.; ZHENG, X.-Q.; PENG, H.-P.; CHEN, W. Bimetallic Bi/Pt peroxidase mimic and its bioanalytical applications. *Analytica Chimica Acta* **2017**, 971, 88–96.