



Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia
Universidade Federal do Maranhão

CARLOS ALBERTO LIRA JUNIOR

TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE COCO ARIRI (*Syagrus cocoides* Martius)
POR CATÁLISE ENZIMÁTICA: UMA ABORDAGEM TEÓRICA E
EXPERIMENTAL

São Luís, MA
2025

CARLOS ALBERTO LIRA JUNIOR

**TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE COCO ARIRI (*Syagrus cocooides* Martius)
POR CATÁLISE ENZIMÁTICA: UMA ABORDAGEM TEÓRICA E
EXPERIMENTAL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

Orientador: Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel

Área de conhecimento: Biotecnologia Industrial

São Luís, MA
2025

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Diretoria Integrada de Bibliotecas/UFMA

Lira Junior, Carlos Alberto.

Transesterificação do óleo de coco ariri *Syagrus cocoides martius* por catálise enzimática: uma abordagem teórica e experimental / Carlos Alberto Lira Junior. - 2025.

162 f.

Orientador(a): Adeilton Pereira Maciel.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Renorbio/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2025.

1. Bioprocesso. 2. Biocatalizadores Imobilizados. 3. Síntese de Ésteres. 4. Biotecnologia Industrial. 5. Química Verde. I. Pereira Maciel, Adeilton. II. Título.

TRANSESTERIFICAÇÃO DO ÓLEO DE COCO ARIRI (*Syagrus cocoides* Martius) POR
CATÁLISE ENZIMÁTICA: UMA ABORDAGEM TEÓRICA E EXPERIMENTAL

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Biotecnologia.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Adeilton Pereira Maciel
Orientador
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof^a. Dr^a Rita de Cássia Silva Luz
Examinadora
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof^a. Dr^a. Rachel Melo Ribeiro
Examinadora
Universidade Federal do Maranhão (UFMA)

Prof. Dr. Marcelo Moizinho Oliveira
Examinador externo
Instituto Federal do Maranhão (IFMA)

Prof. Dr. Gilvan Pereira de Figueredo
Examinador externo
Instituto Federal do Maranhão (IFMA)

Aos meus pais, irmãs, esposa e filhos.

Agradeço profundamente pelo amor incondicional, pelo apoio constante e pela compreensão que me proporcionaram ao longo dessa jornada desafiadora. Cada um de vocês desempenhou um papel essencial nesta jornada.

Este trabalho é dedicado a vocês, que tornaram possível este sonho e tornaram a jornada tão rica e significativa. A conquista é nossa, e eu sou eternamente grato por tê-los ao meu lado.

Com todo meu amor e gratidão.

AGRADECIMENTO

A Deus, por me agraciar com força e sabedoria ao longo desta jornada.

Ao meu orientador, Dr. Adeilton Maciel, pela paciência e dedicação, ações fundamentais para o êxito deste trabalho;

À minha esposa, Marcia, e aos meus filhos, Maria Eduarda e João Lucas, pelo amor incondicional, paciência e apoio constante. Vocês foram meu maior alicerce e a razão de minha motivação;

Aos meus pais, Carlos e Sibá, por todo o amor, apoio e incentivo. Sem a base sólida que vocês me forneceram, esta conquista não seria possível;

Às minhas irmãs, Carliana e Kerla, por sempre estarem ao meu lado, oferecendo apoio e carinho;

À minha sogra (*in memória*), pela contribuição em minha vida e pela influência positiva que sempre deixou em nosso lar;

A Dona Mônica, pela convivência e cuidados que teve com meus filhos quando necessitei me ausentar para realizar atividades;

Aos “parentes” Regina, Lindomar, Elias, Elismar, Cleomar, Eleomar e Tia Maria pelo apoio oferecido a mim durante a minha vida acadêmica;

Às professoras Cáritas e Rafaely, pelos valiosos auxílios e orientações durante a jornada no laboratório. Seus conselhos e expertise foram cruciais para o progresso da pesquisa;

Ao meu companheiro de pesquisa, Wellington Lobato, pela colaboração. Sua parceria foi indispensável para o desenvolvimento deste projeto;

Ao professor Dr. Alberto Monteiro e Yuri Ramos, pela realização dos cálculos computacionais;

Aos meus colegas do NCCA, em especial Dean, Poliana, Luis, Bárbara, Kassia, Florêncio e Antônio, pelas horas alegres e momentos divertidos compartilhados;

Ao funcionário Sandro, pelos momentos de descontração e conversas que ajudaram a aliviar o estresse durante os períodos mais intensos;

Aos companheiros, Isa, Diego e Claudia, pela compreensão ao longo desta trajetória;

Ao amigo Emanuel Lima, pelo compartilhamento das angústias que um doutorado nos traz;

A UFMA, IFMA e ao Renorbio, por todo o suporte institucional;

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, pelo apoio financeiro;

E, a todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste sonho.

Meus sinceros agradecimentos.

No princípio Deus criou os céus e a terra.
Gênesis 1:1

RESUMO

O estado do Maranhão possui diferentes espécies de plantas nativas que podem ser utilizadas como produtoras de óleos vegetais, dentre as quais a palmeira do coco ariri (*Syagrus cocoides* Martius). Seu óleo obtido a partir do seu fruto (coco), pode ser transesterificado com álcoois específicos e o produto aplicado nas mais diversas áreas da indústria. Diante desse potencial, este estudo tem como principal objetivo investigar a transesterificação do óleo de coco ariri utilizando as enzimas Amano Lipase PS, de *Burkholderia cepacia* e Amano lipase PS-IM (imobilizada em terra diatomácea) como biocatalisadores. Na busca por metodologias que trouxessem melhores rendimentos reacionais, realizou-se um estudo de revisão sobre as principais metodologias aplicadas às reações de transesterificação enzimática de óleos vegetais, com ênfase no uso de biocatalisadores. As lipases que se destacaram por sua seletividade e estabilidade em condições reacionais diversas, além de suas vantagens em relação a métodos químicos tradicionais, como menor impacto ambiental e maior pureza dos produtos. Paralelamente, foi realizada uma breve revisão dos principais métodos de química computacional utilizados na investigação da estabilidade e na eficiência de diferentes tipos de reações. Essa revisão permitiu que fosse utilizado o método correto para avaliar o comportamento de cada substrato dentro do meio reacional, de modo que simulações de dinâmica molecular (DM) em uma mistura de mecânica quântica/mecânica molecular (QM/MM) permitiram investigar, as interações entre o ácido láurico (principal componente do óleo de coco ariri) e os sítios ativos das lipases, envolvimento de diferentes tipos de álcoois. Ao final, ensaios experimentais avaliaram os efeitos das diferentes razões molares de óleo/etanol e das cargas catalíticas (2%, 5% e 10%) nos teores de ésteres obtidos. Os melhores resultados foram obtidos com a lipase imobilizada de *Burkholderia cepacia*, utilizando uma carga catalítica de 2% e uma razão óleo/etanol de 1:4, alcançando rendimentos de até 67,1%. Por outro lado, para a lipase na forma livre, os melhores rendimentos (62,8%) foram observados com uma carga catalítica de 10% e uma razão óleo/etanol de 1:6. Esses dados corroboram a adequação do óleo de coco ariri como um substrato promissor e sustentável para reações de transesterificação, evidenciando o papel estratégico das metodologias revisadas e das análises computacionais na otimização do processo.

Palavras-chave: Bioprocesso; Biocatalisadores imobilizados; Síntese de ésteres; Biotecnologia industrial; Química verde

ABSTRACT

The state of Maranhão has several native plant species that can be used to produce vegetable oils, including the ariri coconut palm (*Syagrus cocoides Martius*). The oil obtained from its fruit (coconut) can be transesterified with specific alcohols and the product applied in the most diverse areas of industry. In view of this potential, the main objective of this study is to investigate the transesterification of coconut ariri oil using the enzymes Amano Lipase PS, from *Burkholderia cepacia* and Amano Lipase PS-IM (immobilized in diatomaceous earth) as biocatalysts. A review study was conducted to identify methodologies that yield enhanced reaction yields. The study examined the predominant methodologies employed in the enzymatic transesterification reactions of vegetable oils, with a particular focus on the utilization of biocatalysts. The lipases demonstrated notable selectivity and stability under varied reaction conditions were identified as being advantageous over conventional chemical methods due to their reduced environmental impact and enhanced product purity. Concurrently, a concise review was conducted of the predominant computational chemistry methods employed to assess the stability and efficiency of diverse reaction types. This review established the appropriate methodology for evaluating the behavior of each substrate within the reaction medium. Consequently, molecular dynamics (MD) simulations in a mixture of quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) were employed to investigate the interactions between lauric acid (the primary component of coconut ariri oil) and the active sites of lipases, surrounded by various types of alcohols. Subsequently, experimental tests were conducted to assess the impact of varying oil-to-ethanol molar ratios and catalytic loads (2%, 5%, and 10%) on the ester content obtained. The optimal conditions for this process were determined to be an immobilized lipase from *Burkholderia cepacia*, a catalytic load of 2%, and an oil/ethanol ratio of 1:4, yielding a maximum of 67.1% of the desired product. Conversely, for lipase in free form, the optimal yields (62.8%) were attained with a catalytic load of 10% and an oil/ethanol ratio of 1:6. These findings underscore the viability of coconut ariri oil as a prospective, eco-friendly substrate for transesterification reactions, underscoring the efficacy of the revised methodologies and computational analyses in optimizing the process.

Keywords: Bioprocess; Immobilized biocatalysts; Ester synthesis; Industrial biotechnology; Green chemistry

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 2.1 - Reação de esterificação _____	16
Figura 2.2 - Reação de transesterificação _____	17
Figura 2.3 - Mecanismo de transesterificação via catálise homogênea básica. _____	19
Figura 2.4 - Mecanismo de transesterificação via catálise homogênea ácida. _____	20
Figura 2.5 - Mecanismo de transesterificação via catálise heterogênea básica. _____	23
Figura 2.6 - Mecanismo de transesterificação via catálise heterogênea ácida: a) sítios ácidos de Brønsted; (b) Sítios de ácido de Lewis. _____	25
Figura 2.7 - <i>Syagrus cocoides</i> Martius. a. Palmeira b. Fruto. _____	34
Figura 4.1 - Classificação e tipos de catalisadores. _____	41
Figura 4.2 - Estrutura da lipase <i>Burkholderia cepacia</i> com uma tríade catalítica _____	43
Figura 4.3 - Mecanismo de transesterificação da catálise enzimática _____	44
Figura 5.1 - Classificação dos métodos de química computacional. _____	62
Figure 6.1 - Lauric acid triglyceride (C12) _____	76
Figure 6.2 - α -bisabolol (6-Methyl-2-(4-methyl-3-cyclohexenyl)-5-hepten-2-ol. _____	77
Figure 6.3 - Diagram of the quantum region (QM) schematic used in QM/MM simulations. _____	79
Figure 6.4 - Diagram of the reaction coordinates used to investigate the transesterification reaction mechanism. _____	80
Figure 6.5 - RMSD for different enzymatic systems with α -bisabolol and ethanol _____	83
Figure 6.6 - Graph of the potential energy surface (PES) in the C12 acylation step with α -bisabolol (a) and ethanol (b). _____	85
Figure 6.7 - Transition state geometries in the acylation of C12 with ethanol (a) and α -bisabolol (b). _____	87
Figure 6.8 - Time and evolution of the interatomic distances between each catalytic triad residue in the C12 acylation stage with ethanol (a) and α -bisabolol (b). _____	88
Figure 6.9 - Chromatoplates indicating the positions of ethyl esters (EE), triglycerides (TG), fatty acids (FA), diglycerides (DG), and monoglycerides (MG). _____	89
Figure 7.1 - Experimental system used in transesterification reactions. _____	106
Figure 7.2 - Chromatogram of free fatty acids in ariri coconut oil. _____	109
Figure 7.3 - Spectrum in the infrared region of ariri coconut oil. _____	110
Figure 7.4 - Pareto plot for the effect of variables on the content of esters produced - <i>B. Cepacia</i> (Free). _____	118

Figure 7.5 - Pareto plot for the effect of variables on the content of esters produced - *B. Cepacia* (immobilised). _____ 119

Figure 7.6 - Graph of response surface (b) and contour (b) in the content of esters produced - *B. Cepacia* (free). _____ 120

Figure 7.7 - Graph of response surface (a) and contour (b) in the content of esters produced - *B. Cepacia* (immobilised). _____ 121

LISTA DE TABELAS

Tabela 2.1 - Classificação das enzimas de acordo com a União Internacional de Bioquímica.	27
Tabela 4.1 - Vantagens e desvantagens das catálises homogênea e heterogênea.	42
Tabela 4.2 - Condições experimentais em reações de transesterificação utilizando biocatalisadores.	47
Table 6.1 - Composition of fatty acids in different vegetable oils	76
Table 6.2 - Enzymatic reactions of ariri coconut oil with α -bisabolol.	82
Table 6.3 - Thermodynamic parameters in the C12 acylation step with α -bisabolol and ethanol.	85
Table 7.1 - Variables and work limits defined for the experimental routes.	106
Table 7.2 - Physicochemical parameters of ariri coconut oil and other oils used in enzymatic transesterification reactions.	107
Table 7.3 - Fatty acid composition in ariri coconut oil.	109
Table 7.4 - Complete Experimental Design with the results for conversion into esters for enzymatic transesterification of ariri coconut oil.	111
Table 7.5 - Ester content obtained in enzymatic transesterification under different experimental conditions.	114
Table 7.6 - Analysis of variance (ANOVA) - <i>B. Cepacia</i> (Free).	116
Table 7.7 - Analysis of variance (ANOVA) - <i>B. Cepacia</i> (Immobilized).	116

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ANOVA – Análise de Variância

B. *Cepacia* – *Burkholderia cepacia*

CALB – Lipase B de *Candida antártica*

CE – Comissão de Enzimas

DCC – Delineamento Composto Central

DFT – Teoria do Funcional da Densidade

DG – Diglicerídeos

DM – Dinâmica Molecular

EE – Ésteres Etílicos

FA – Ácidos Graxos

IUB – União Internacional de Bioquímica

MG – Monoglicerídeos

MSR – Metodologia de Superfície de Resposta

QM/MM – Mecânica Quântica/Mecânica Molecular

RML – Lipase de *Rhizomucor miehei*

TG – Triglicerídeos

APRESENTAÇÃO

Esta tese, intitulada "Transesterificação do óleo de coco ariri (*Syagrus cocoides* martius) por catálise enzimática: uma abordagem teórica e experimental", investiga o potencial uso do óleo de coco ariri como matéria-prima sustentável para a produção de bioproduto via transesterificação, empregando Amano lipases como biocatalisadores.

De forma a apresentar cada etapa do estudo, esta tese está dividida em quatro artigos distintos:

Artigo I: Rotas biotecnológicas aplicadas em reações de transesterificação.

Este capítulo apresenta uma revisão detalhada sobre as diferentes rotas utilizadas nas reações de transesterificação, com especial atenção ao uso de lipases como catalisadores. O trabalho destaca a falta de uma rota padrão para esse tipo de reação em que diferentes metodologias são exploradas, incluindo variações no tipo de substrato, carga catalítica, razão molar álcool/óleo, temperatura, tempo reacional e adição de água e/ou solventes.

Artigo II: Química computacional: uma revisão sobre métodos, fundamentos e aplicações científicas.

Este capítulo, uma revisão abrangente sobre química computacional, abordando os principais métodos com ênfase em suas características, avanços históricos e aplicações científicas em diferentes áreas, os desafios atuais e os avanços promissores na área, reafirmando sua relevância no progresso científico moderno.

Artigo III: Estudo teórico e experimental da transesterificação enzimática do óleo de coco de ariri com α -bisabolol e etanol: Um estudo comparativo

Este capítulo, traz uma investigação detalhada do uso do α -bisabolol e do etanol em transesterificação enzimática. O estudo combina abordagens computacionais e experimentais para comparar o desempenho de cada álcool na conversão do triglicerídeos de ácido láurico em ésteres.

Artigo IV: Uso inovador do óleo de coco ariri na produção sustentável e rápida de ésteres via transesterificação enzimática com etanol.

Este capítulo aborda o objetivo central da tese que é caracterizar e aplicar o óleo de coco ariri em reações de transesterificação enzimáticas, de forma a consolidar o óleo de coco ariri como uma alternativa inovadora e promissora para a produção industrial de bioprodutos, contribuindo para avanços avançados em processos sustentáveis e tecnicamente viáveis.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REFERENCIAL TEÓRICO	16
2.1 ESTERIFICAÇÃO	16
2.1.1 Transesterificação	17
2.2 CATÁLISE NA TRANSESTERIFICAÇÃO	18
2.2.1 Transesterificação via catálise homogênea	18
2.2.2 Transesterificação via catálise heterogênea	22
2.2.3 Catálise enzimática	27
2.3 ÁLCOOL	29
2.4 ARIRI	32
2.4.1 Gênero <i>Syagrus</i>	32
2.4.2 <i>Syagrus cocoides</i> Martius	33
2.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	35
3 OBJETIVOS	38
3.1 OBJETIVO GERAL	38
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
4 ROTAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS EM REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO	39
5 QUÍMICA COMPUTACIONAL: UMA REVISÃO SOBRE MÉTODOS, FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES CIENTÍFICAS	59
6 ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DA TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE COCO DE ARIRI COM α-BISABOOL E ETANOL: UM ESTUDO COMPARATIVO (ARTIGO EM INGLÊS)	74
7 USO INOVADOR DO ÓLEO DE ARIRI NA PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E RÁPIDA DE ÉSTERES VIA TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA COM ETANOL (ARTIGO EM INGLÊS)	101
8 CONSIDERAÇÕES FINAIS	136
9 PERSPECTIVAS FUTURAS	136
REFERÊNCIAS	139
ANEXO I – Carta de aceite – Revista Vale do Rio Verde	159
ANEXO II – Artigo publicado – Cuadernos de Educación y Desarrollo	160
ANEXO III – Submissão – International Journal of Quantum Chemistry	161
ANEXO IV – Submissão – Revista Ciência e Natura	162

1 INTRODUÇÃO

A transesterificação enzimática tem sido utilizada como uma alternativa sustentável para a síntese de bioprodutos, especialmente no contexto da produção de biodiesel e outros ésteres de ácidos graxos. Suas principais vantagens em relação à catálise química convencional incluem condições reacionais mais brandas, menor geração de subprodutos indesejáveis e maior seletividade (Cordeiro *et al.*, 2011; Jegannathan *et al.*, 2008; Kalita *et al.*, 2022; Maghraby *et al.*, 2023; Mandari e Devarai, 2022b; Moya Joëlle Carole *et al.*, 2023; Narwal e Gupta, 2013; Parmar *et al.*, 1992; Pinto *et al.*, 2005; Rao *et al.*, 2021; Shah *et al.*, 2003). No entanto, a implementação em larga escala ainda enfrenta desafios, principalmente no que se refere à escolha de substratos economicamente viáveis e ao desenvolvimento de metodologias otimizadas para diferentes combinações de óleo e álcool.

Entre os substratos alternativos que podem ser empregados na transesterificação enzimática, destaca-se o óleo de coco ariri (*Syagrus cocoides* Martius), um substrato com grande potencial para aplicações biotecnológicas mais ainda pouco estudado (Bastos, 2020; Frazão, 2023; Penha *et al.*, 2023; Pires, 2020). Até o momento, não há estudos específicos sobre o comportamento desse óleo em reações de transesterificação enzimática, o que ressalta a necessidade de investigações detalhadas para avaliar seu potencial nessa aplicação. Originário do bioma brasileiro, esse óleo possui uma composição rica em triglicerídeos de cadeia saturada, tornando-o uma matéria-prima promissora para a síntese de ésteres de ácidos graxos (Penha *et al.*, 2023; Pires, 2020). Além disso, sua elevada relação amêndoa/fruto favorece a extração de óleo em boas quantidades, contribuindo para a viabilidade do seu aproveitamento industrial (Ciconini *et al.*, 2013; Pires, 2020).

A eficiência da transesterificação enzimática depende de diversos parâmetros reacionais, como a carga catalítica e a razão molar álcool/óleo, que afetam diretamente o meio reacional e, consequentemente, os rendimentos obtidos. A otimização dessas variáveis é essencial para maximizar a conversão dos substratos e garantir a viabilidade econômica do processo (Maheshwari *et al.*, 2022; Masango *et al.*, 2024; Monika *et al.*, 2023). Além disso, a escolha do álcool utilizado na reação é um fator crítico. Embora o metanol seja amplamente empregado devido à sua alta reatividade, sua toxicidade e origem fóssil têm incentivado a busca por alternativas mais sustentáveis, como o etanol que é obtido de fontes renováveis, contribuindo assim para uma reação mais sustentável (Cordeiro *et al.*, 2011; G. F. Ferreira *et al.*, 2025; Gotovuša *et al.*, 2022; Maheshwari *et al.*, 2022; Masango *et al.*, 2024; Mateos *et al.*, 2021; Pinto *et al.*, 2005).

No que se refere à catálise enzimática, a lipase de *Burkholderia cepacia* tem se destacado como uma das enzimas mais eficientes para reações de transesterificação, em virtude de sua excelente estabilidade e especificidade. Sua capacidade de atuar em diversos substratos e sua resistência a solventes orgânicos tornam-na uma escolha promissora para a produção de biodiesel e outros bioprodutos de interesse industrial (Bajaj *et al.*, 2010a; Jaeger e Eggert, 2002; Moschona *et al.*, 2024; Porto de Souza Vandenberghe *et al.*, 2020; Salihu *et al.*, 2012; Thangaraj *et al.*, 2019a).

A otimização de qualquer reação catalítica exige um entendimento detalhado de seus mecanismos, e, nesse sentido, a química computacional tem se mostrado uma ferramenta poderosa na elucidação dos mecanismos catalíticos e no aprimoramento dos processos enzimáticos (Asakuma *et al.*, 2009; Awogbemi e Desai, 2025; Osman *et al.*, 2024). Métodos híbridos, como Quantum Mechanics/Molecular Mechanics (QM/MM), permitem análises detalhadas das interações entre substratos e lipases, fornecendo informações cruciais sobre a estabilidade dos intermediários reacionais e os fatores que influenciam a eficiência catalítica (Jindal e Warshel, 2016; Q. Li *et al.*, 2024; Osman *et al.*, 2024; Sabin, 2010).

A integração de abordagens experimentais e computacionais possibilita uma compreensão mais aprofundada da dinâmica da reação, permitindo o desenvolvimento de metodologias mais eficazes e sustentáveis. Nesse contexto, este trabalho visa investigar a transesterificação do óleo de coco ariri, utilizando a lipase de *Burkholderia cepacia* como biocatalisador, explorando tanto abordagens experimentais quanto computacionais fornecendo diretrizes para o desenvolvimento e otimização de novas metodologias e consequentemente contribuir para a consolidação da transesterificação enzimática como uma alternativa viável e sustentável para a indústria química e biotecnológica.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 ESTERIFICAÇÃO

A esterificação é uma reação química que forma um éster como produto principal. Esta reação normalmente envolve a reação de um ácido carboxílico com um álcool, produzindo um éster e água como subprodutos. A esterificação é uma reação fundamental na química orgânica, amplamente utilizada tanto em processos industriais quanto em pesquisas acadêmicas devido à versatilidade e utilidade dos ésteres (Carey e Sundberg, 2007; McMurry, 2011)

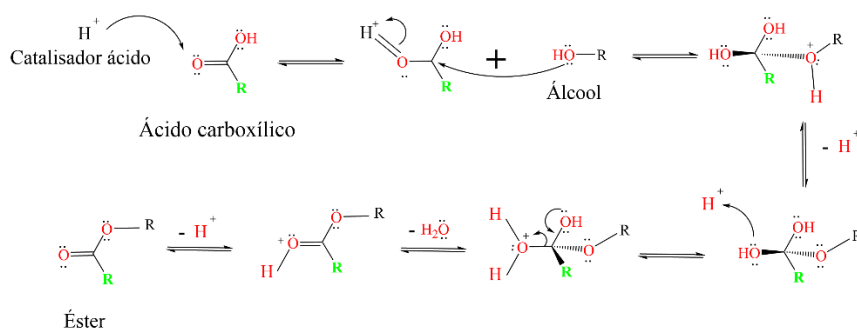
O mecanismo geral de esterificação envolve o ataque nucleofílico do grupo hidroxila do álcool ao carbono carbonílico do ácido carboxílico. Este processo é frequentemente catalisado por um ácido, como o ácido sulfúrico, que protona o oxigênio carbonílico, aumentando sua eletrofilicidade e tornando o carbono carbonílico mais suscetível ao ataque nucleofílico. A subsequente perda de uma molécula de água leva à formação da ligação éster (Smith, 2020).

Figura 2.1 - Reação de esterificação

Reação global



Mecanismo reacional



Fonte: Adaptado de Smith (2020).

Entre os diferentes tipos de esterificação, destaca-se a transesterificação, uma reação em que ocorre a troca de grupos alcoólicos entre um éster e um álcool. Esse processo é amplamente utilizado em indústrias como a de biocombustíveis em que óleos e gorduras são convertidos em ésteres metílicos ou etílicos.

2.1.1 Transesterificação

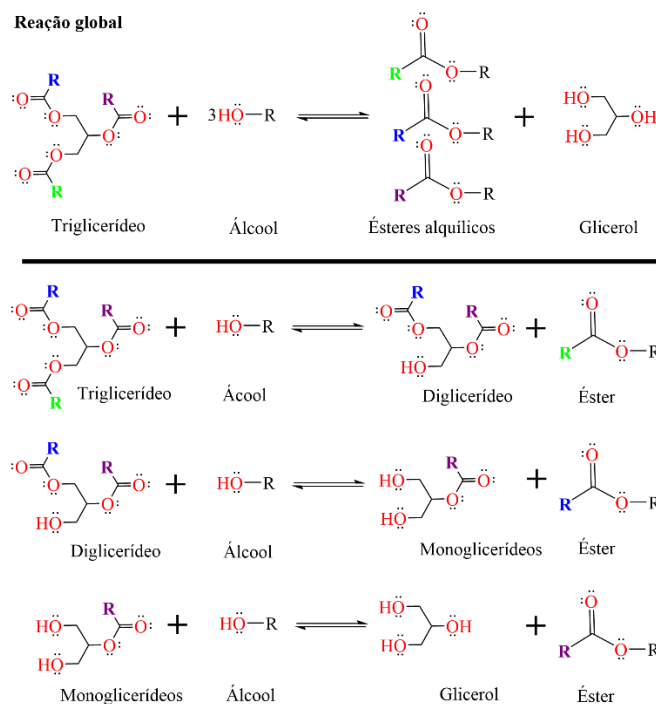
Reações de transesterificações são reações químicas em que o grupo funcional éster em uma molécula é trocado por outro grupo álcool formando um novo éster e um novo álcool.

Utilizada na sintetização de polímeros, compostos biologicamente ativos e fármacos, este processo é comumente utilizado na produção de biodiesel, onde os triglicerídeos (TG) oriundos do óleo vegetal, da gordura animal e dos óleos e gorduras residuais se transforma em ésteres alquílicos através da troca da carboxila do ácido graxo por um grupo hidroxila oriundo de um álcool (Cai *et al.*, 2020; Gotor, 2000; T. Liu *et al.*, 2020; Luna *et al.*, 2016; Otera, 1993).

A transesterificação é uma reação de múltiplas etapas, ocorrendo de forma sequencial e reversível, em que os triglicerídeos são transformados em diglicerídeos e estes em monoglicerídeos e depois convertidos em ésteres (biodiesel) e glicerol (subproduto), produzindo um éster alquílico em cada etapa.

A reação estequiométrica necessita de 3 mols de álcool utilizado para cada 1 mol de triglicerídeo. Para que se obtenham maiores rendimentos dos ésteres alquílicos e permitir sua separação do glicerol, costuma-se utilizar excessos de álcool (Mumtaz *et al.*, 2017; Otera, 1993; Parmar *et al.*, 1992). O mecanismo para a reação transesterificação é apresentado na **Figura 2.2**.

Figura 2.2 - Reação de transesterificação



Fonte: Adaptado de Luna *et al.* (2016); Mumtaz *et al.* (2017).

2.2 CATÁLISE NA TRANSESTERIFICAÇÃO

Nas transesterificações, catalisadores são utilizados para que as reações ocorram mais rapidamente e que se obtenham melhores rendimentos, através da redução da energia de ativação necessária para que a reação ocorra. Os catalisadores, a depender da quantidade de fases que ele forma com o meio reacional, podem ser divididos em homogêneos e heterogêneos, ou ainda em biocatalisadores. Na atualidade, os catalisadores homogêneos são preferíveis nas conversões de triglicerídeos, pois seu uso é simples necessitando de menor tempo para que a reação ocorra (B. Wang *et al.*, 2023).

2.2.1 Transesterificação via catálise homogênea

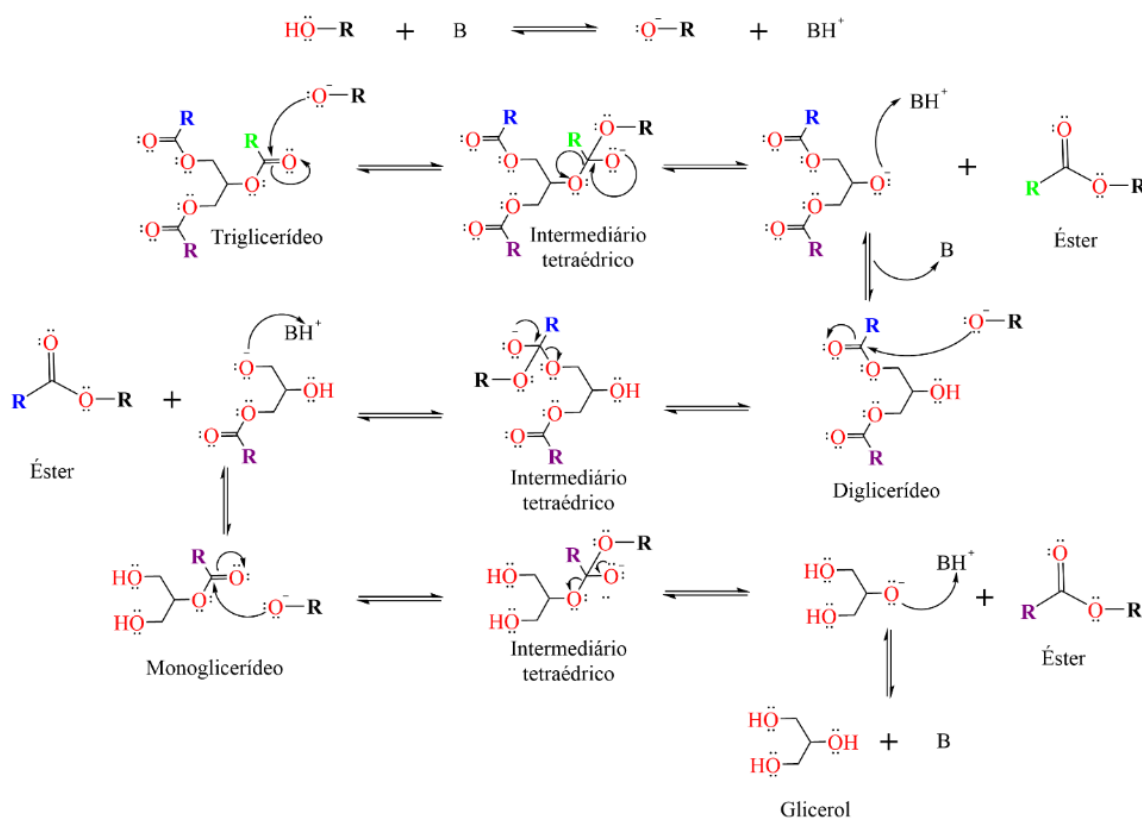
Na catálise homogênea, tanto os reagentes quanto os componentes do catalisador se encontram em uma única fase e geralmente um composto solúvel que forma um complexo intermediário com os reagentes. Catalisadores homogêneos possuem diversas vantagens como alta eficiência, são mais fáceis de preparar e necessitam de um tempo menor para reagir, mas sua reutilização é praticamente impossível (Arachchige *et al.*, 2021; Mandari e Devarai, 2022a; Rizwanul Fattah *et al.*, 2020a; Thangaraj *et al.*, 2019b).

Neste tipo de catálise os catalisadores utilizados podem ser alcalinos ou ácidos. Catalisadores básicos, são capazes de reagirem em baixas temperaturas e à pressão atmosférica, seus produtos podem ser obtidos em menor tempo, estão amplamente disponíveis e são mais econômicos. Por terem essas características, o hidróxido de sódio e hidróxido de potássio, são muito utilizados na indústria, mesmo possuindo menor atividade catalítica quando comparado com os alcóxidos. Independentemente de qual álcali utilizado, poderá ocorrer a formação excessiva de sabão, de modo que este tipo de catálise não é adequado para matérias-primas com teores de ácidos graxos livres (AGL) acima de 2% e com certas quantidades de água, pois inibe a separação dos ácidos com o glicerol diminuindo o rendimento da reação, através da formação de uma emulsão durante a lavagem do produto (de Lima *et al.*, 2016; Mandari e Devarai, 2022a; Rizwanul Fattah *et al.*, 2020b; Thangaraj *et al.*, 2019b).

O mecanismo da reação catalisada por álcali é demonstrado na **Figura 2.3**. O processo inicia com a base (B) reagindo com o álcool (R-OH) gerando a base conjugada ânion alcóxido (^-OR) e o catalisador protonado (BH^+). Posteriormente, tem-se o ataque nucleofílico, do ânion alcóxido ao grupo carbonila do triglicerídeo, formando um intermediário tetraédrico que na etapa posterior formará o éster alquílico e o ânion correspondente do diglicerídeo. Na última

etapa, o diglicerídeo desprotona o catalisador, regenerando-o, permitindo então sua reação com uma outra molécula do álcool de maneira a reiniciar o ciclo catalítico para que então moléculas de monoglicerídeos e/ou diglicerídeos sejam convertidas pelo mesmo mecanismo em uma mistura de ésteres aquílicos e glicerol. (Nisar *et al.*, 2021; Schuchardt *et al.*, 1998).

Figura 2.3 - Mecanismo de transesterificação via catálise homogênea básica.



Fonte: Adaptado de Nisar *et al.* (2021); Schuchardt *et al.* (1998)

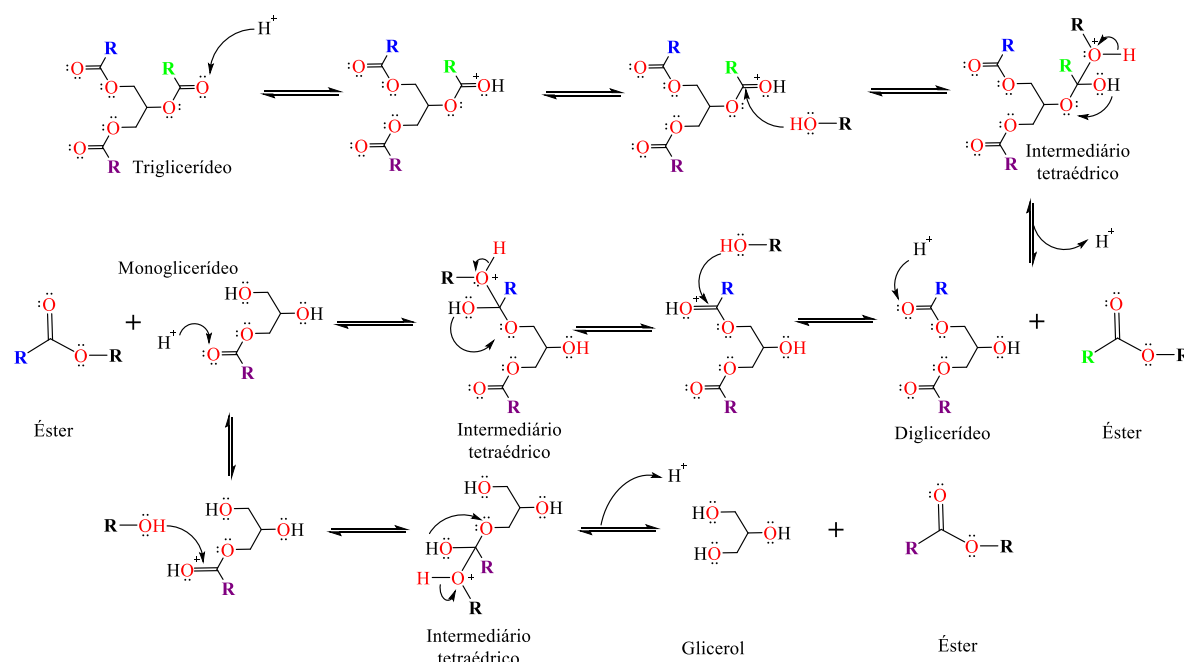
Os catalisadores homogêneos ácidos apresentam altos rendimentos, no entanto o processo de transesterificação exige entre outros controles, que a reação ocorra em temperaturas superiores a 100°C, em pressão autogênica, o que evita a perda do álcool e tempos acima de 3h, fazendo com que o processo seja bastante lento ao ponto de ser 4000 vezes mais demorado quando comparado com a via alcalina. Além das particularidades expostas acima, a catálise ácida traz diversos problemas ambientais e corrosivos, fazendo com que tal método seja pouco utilizado em aplicações comerciais (Bohlouli e Mahdavian, 2021; de Lima *et al.*, 2016; A. B. Ferreira *et al.*, 2012; Lotero *et al.*, 2005; Y. Wang *et al.*, 2006).

Apesar das limitações, os catalisadores ácidos não são diretamente afetados pelos teores de água e ácidos graxos livres, o que permite sua utilização em matérias-primas baratas como óleos residuais, gorduras animais e óleos não comestíveis com alto teor de ácidos graxos livres.

Além disso, podem catalisar simultaneamente reações de esterificação e transesterificação (Jacobson *et al.*, 2008; Luna *et al.*, 2016; Mandari e Devarai, 2022a; Thangaraj *et al.*, 2019b). Tanto ácidos de Lewis quanto de Brønsted podem ser utilizados como catalisadores em reações de transesterificação ácidas sendo o último, o mais comum e preferível da indústria, se destacando os ácidos sulfúrico, clorídrico e sulfônico (Di Serio *et al.*, 2005; Kolet *et al.*, 2020; Nisar *et al.*, 2021; Soriano *et al.*, 2009a).

Na **Figura 2.4** temos o mecanismo de reação de transesterificação catalisada por ácido. O mecanismo inicia com a protonação da carbonila do triglicerídeo pelo catalisador ácido favorecendo o ataque nucleofílico do álcool que ocorre na etapa seguinte formando um intermediário tetraédrico. Na última etapa os prótons são migrados ocorrendo a quebra do intermediário tetraédrico que forma então o diglicerídeo e uma molécula de éster, ocorrendo ainda a regeneração do catalisador ácido. O processo então é refeito para os diglicerídeos e monoglicerídeos levando a formação de uma mistura de ésteres aquílicos e glicerol (Ma *et al.*, 2016; Nisar *et al.*, 2021; Ramos *et al.*, 2011).

Figura 2.4 - Mecanismo de transesterificação via catálise homogênea ácida.



Fonte: Adaptado de Ma *et al.* (2016); Nisar *et al.* 2021; Ramos *et al.* (2011).

Diversos trabalhos utilizando catálise homogênea através de catalisadores ácidos e básicos são encontrados na literatura, sendo que os básicos apresentam em sua maioria os melhores resultados (Foroutan *et al.*, 2020; Rajendran *et al.*, 2022; Tacias-Pascacio *et al.*, 2019).

Georgogianniet *al.* (2009), no estudo da reação de transesterificação metílica do óleo de colza na presença de catalisadores alcalinos, homogêneo (NaOH) e heterogêneos ((Mg MCM-41, hidrotalcita Mg-Al e zircônia impregnada com K^+) verificou que entre os catalisadores heterogêneos a hidrotalcita Mg-Al que possui maior alcalinidade apresentou maiores rendimentos nos ésteres metílicos (97%) em comparação com os demais catalisadores heterogêneos. Foi notado ainda que quando se aumentava a basicidade dos catalisadores heterogêneos maiores conversões eram adquiridas. Na comparação com o catalisador homogêneo foi verificado que este aumentou significativamente a reação, quando comparado com os catalisadores heterogêneos. No entanto, a problemática ambiental ocasionada pela necessidade da neutralização da mistura reacional e o uso de elevadas quantidades de solventes e energia, foi considerada negativamente por parte dos autores (Georgogianni *et al.*, 2009).

Sorianto *et al.* (2009) realizaram a sintetização de biodiesel a partir do óleo de canola com metanol na presença de tetraidrofurano e utilizando os ácidos de Lewis $AlCl_3$ e $ZnCl_2$ como catalisadores. Os resultados demonstraram que em condições otimizadas, o $AlCl_3$ permitiu uma conversão de 98% enquanto o $ZnCl_2$ apenas 22% sendo este resultado inferior atribuído à sua acidez mais fraca (Soriano *et al.*, 2009b).

Fajardo *et al.* (2014) compararam os resultados produzidos na transesterificação de óleo de cozinha residual e gordura de frango por catálise homogênea com NaOH. Com variações na temperatura reacional, no percentual de catalisador e na razão molar entre o álcool e óleo, os rendimentos obtidos ficaram entre 78% e 94% para gordura de frango e 83% e 95% para óleo de cozinha residual. Esses resultados representam um caminho alternativo para a substituição dos óleos comestíveis e não comestíveis na produção de biodiesel, principalmente o de óleo de cozinha residual que possui menor custo (Fajardo *et al.*, 2014).

Rajamanickam *et al.* (2020) realizaram um planejamento experimental sobre a obtenção de ésteres metílicos a partir óleo de pinhão-manso (*Jatropha curcas* L) catalisado com KOH. Nas melhores condições reacionais obtiveram 98,4% de conversões em ésteres metílicos, fazendo com que o óleo de pinhão-manso seja uma alternativa aos combustíveis fósseis (Kumar Rajamanickam *et al.*, 2020).

Na mesma ideia trazidas por Fajardo *et al.* (2014), Belkhanchi *et al.* (2021), buscaram uma fonte alternativa para produção de biodiesel e assim como o trabalho anterior, óleo de cozinha residual foi utilizado na transesterificação, em que uma mistura do óleo de diferentes fontes foi transesterificada com diferentes álcoois (metanol, etanol, propan-2-ol) na presença dos catalisadores homogêneo básicos NaOH e KOH. Nas condições otimizadas, o metanol na

presença de KOH proporcionou os melhores resultados com rendimentos superiores a 98%. Destaca-se ainda que as caracterizações realizadas no biodiesel foram compatíveis às do biodiesel comercial e do petrodiesel, conforme padrões internacionais (Belkhanch *et al.*, 2021).

Objetivando uma análise cinética da transesterificação do óleo de soja através da catálise homogênea, Encinar *et al.* (2022), aplicou diferentes catalisadores homogêneos, tanto ácidos quanto básicos, na reação, variando a proporção dos mesmos, a relação metanol/óleo, temperatura e taxa de agitação. Aplicando um mecanismo de reação de *pseudo*-primeira ordem para todos os casos, verificaram que energia de ativação para catálise homogênea ácida foi aproximadamente 70% maior quando comparada básica, corroborando com literatura atual (Encinar *et al.*, 2022; Rajendran *et al.*, 2022).

Outra alternativa para o uso da catálise homogênea, foi avaliada por Subramaniam *et al.* (2023) em que óleo de cozinha residual foi modificado via transesterificação metanólica com o auxílio de NaOH. O objetivo do trabalho era propor um substituto ao óleo mineral que é utilizado em transformadores de potência, equipamento empregado em sistemas de medição de tensão elétrica. Os resultados experimentais da transesterificação mostraram que a acidez do óleo residual diminuiu em 93%. A reação também possibilitou um aumento na tensão de ruptura de 240%. Vale frisar que a tensão de ruptura de um óleo refere-se à tensão na qual as propriedades isolantes do óleo se rompem e ele começa a conduzir eletricidade ou seja é o quanto um óleo pode suportar de tensão dentro de equipamentos elétricos sem ser danificado e é um dos fatores mais importantes no teste de qualidade do óleo de transformador. Apesar de apresentar uma maior acidez quando comparado ao óleo mineral, o óleo de cozinha residual ainda poderá ser uma opção viável a utilização devido à sua maior tensão de ruptura, desde que os componentes dos transformadores possam ser revestidos com produtos anticorrosivos (Subramaniam *et al.*, 2023).

2.2.2 Transesterificação via catálise heterogênea

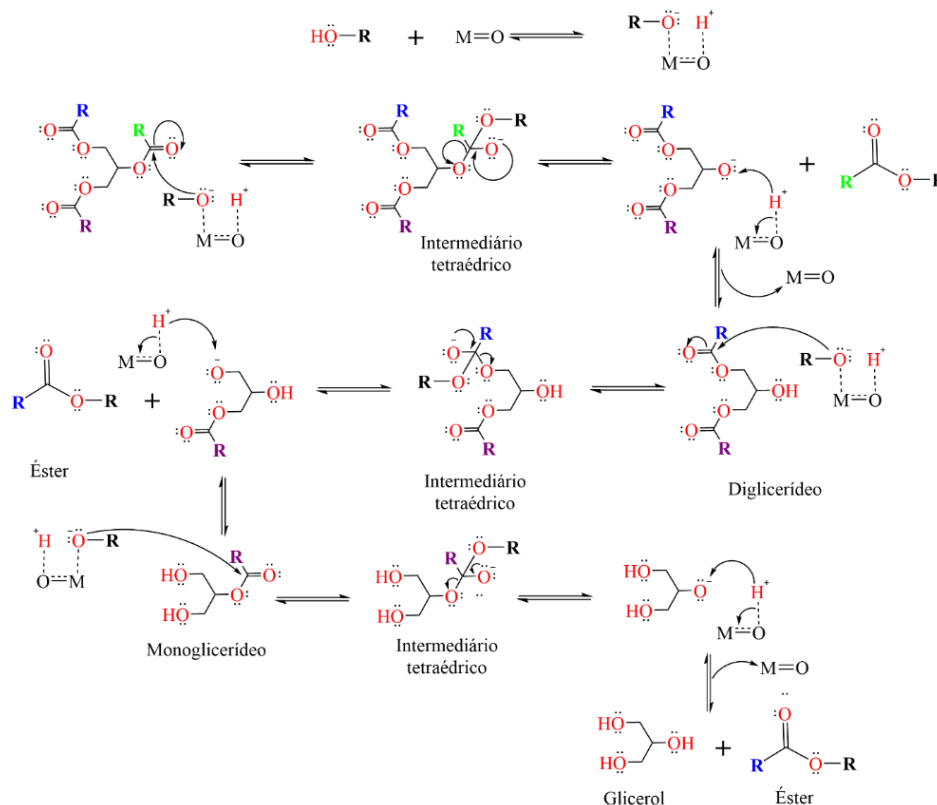
Quando o catalisador se encontra em uma fase diferente dos reagentes, sendo que estes geralmente no estado líquido e o catalisador no estado sólido, teremos uma catálise heterogênea, em que seus catalisadores são mais seletivos, podem ser reutilizados e são menos onerosos, quando comparado com os catalisadores homogêneos. Como desvantagens convertem menos os triglicerídeos em ésteres alquílicos e exigem condições reacionais mais severas (Borges e Díaz, 2012; Faruque *et al.*, 2020; D.-W. Lee *et al.*, 2009; Mukhtar *et al.*, 2022).

Os catalisadores heterogêneos também podem ser classificados em ácidos e básicos. Catalisadores heterogêneos básicos se destacam pela facilidade na purificação do produto e na

minimização dos efluentes gerados. Independente da possibilidade de lixiviação dos sítios ativos e dos maiores custos em relação aos ácidos, diferentes catalisadores têm sido utilizados na transesterificação de triglicerídeos, tais como óxidos metálicos, óxidos metálicos mistos, hidrotalcitas, zeólitas entre outros. De modo que os óxidos metálicos, principalmente os terrosos, são os mais estudados se destacando principalmente o óxido de cálcio (CaO) que é bastante abundante, possui alta basicidade, tem vida útil longa, exige condições reacionais moderadas e consequentemente menor custo (Borges e Díaz, 2012; Kawashima *et al.*, 2008; Mukhtar *et al.*, 2022; Nisar *et al.*, 2021; Orege *et al.*, 2022).

O mecanismo da reação catalisada com óxido de metal divalente é apresentado na **Figura 2.5**. Na etapa inicial, tem-se a abstração do próton do álcool pelos sítios básicos formando o ânion alcóxido. Posteriormente, o ânion alcóxido ataca a carbonila dos triglicerídeos, formando um intermediário tetraédrico que na sequência, libera um diglicerídeo aniônico e uma molécula de éster. O diglicerídeo aniônico é então protonado para que o catalisador seja regenerado e o processo seja reiniciado levando a formação de uma mistura de ésteres aquílicos e glicerol (Chouhan e Sarma, 2011; Kouzu *et al.*, 2008; Widiarti *et al.*, 2019).

Figura 2.5 - Mecanismo de transesterificação via catálise heterogênea básica.



Fonte: Adaptado de Chouhan e Sarma, (2011); Kouzu *et al.* (2008); Widiarti *et al.* (2019).

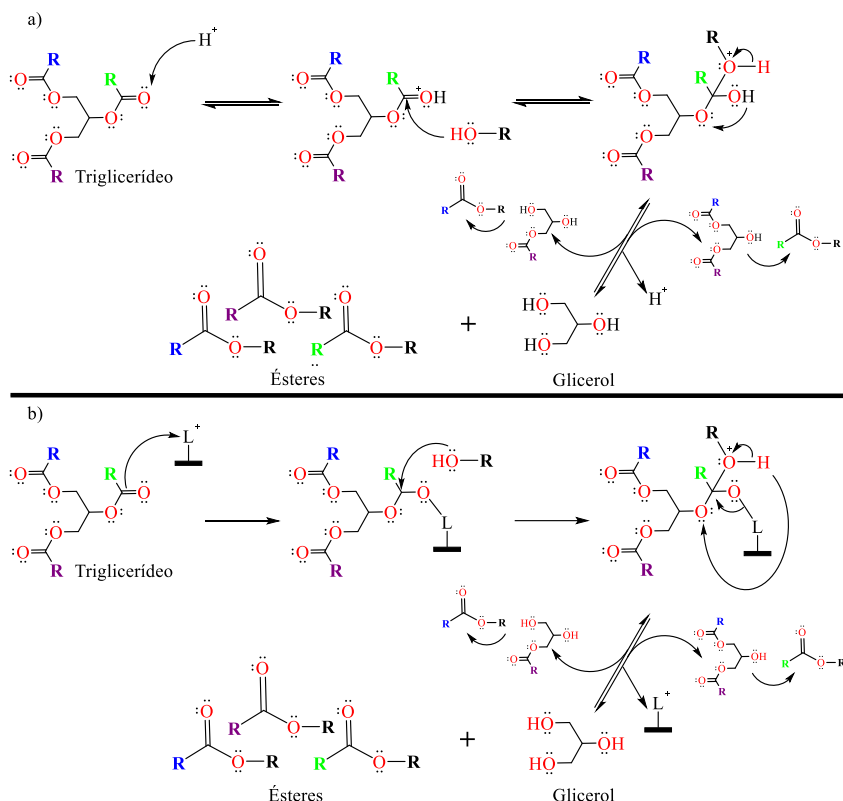
Os demais catalisadores de óxidos alcalino-terrosos também são utilizados, cuja atividade catalítica possui a seguinte ordem: $\text{BaO} > \text{SrO} > \text{CaO} > \text{MgO}$. Mesmo com maior atividade, o uso de BaO não é destacada em virtude da sua toxicidade e solubilidade em etanol e metanol (Cantrell *et al.*, 2005; H. Li *et al.*, 2020). Catalisadores de óxidos metálicos mistos também têm sido utilizados com resultados relevantes (H. V. Lee *et al.*, 2014; G. Liu *et al.*, 2020; Taufiq-Yap *et al.*, 2011).

Quando comparados com os básicos, os catalisadores heterogêneos ácidos, são menos reativos e, portanto, necessita-se de maiores tempos e de temperaturas mais altas no processo reacional. Apesar disso sua utilização em processos industriais se destaca pela baixa influência da água e dos ácidos graxos livres presentes no meio, pela presença de sítios ativos ácidos (Brønsted ou Lewis) e principalmente por catalisar ao mesmo tempo a transesterificação e esterificação (Borges e Díaz, 2012; Guldhe *et al.*, 2017; Hara, 2009; Lotero *et al.*, 2005).

São inúmeros os catalisadores utilizados na transesterificação heterogênea, dos quais podemos citar: as resinas de troca catiônica, os derivados de heteropoliácidos, à base de ácido sulfônico, montmorilonita ácida, óxidos metálicos e mistos, polímeros, polioxometalatos, materiais de carbono etc. indiferentes dos tipos, o catalisador ácido heterogêneo ideal deve possuir poros grandes em e bom número, ter alta concentração de sítios ácidos moderados a forte e ter superfície com características hidrofóbicas (Carvalho *et al.*, 2017; Lotero *et al.*, 2005; Mandari e Devarai, 2022a).

Na reação de transesterificação de triglicerídeos com catalisadores heterogêneos ácidos, tem-se dois caminhos diferentes na formação dos intermediários. Nos ácidos de Brønsted, seus sítios atuando como doadores de prótons levam a formação de um intermediário protonado. Já nos ácidos de Lewis o intermediário é formado pela aceitação de um par de elétrons. Em ambos os ácidos, o intermédio será atacado nucleofilicamente pela molécula do álcool produzindo novos intermediários que sofrerão migrações de prótons, liberando moléculas de diglicerídeo e/ou monoglicerídeo e uma molécula de éster. No final, da reação será obtido uma mistura de ésteres e glicerol (Alaba, Sani e Ashri, 2016; Cordeiro *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2023). O mecanismo reacional, para os sítios ácidos de Lewis e Brønsted é apresentado na **Figura 2.6**.

Figura 2.6 - Mecanismo de transesterificação via catálise heterogênea ácida: a) sítios ácidos de Brønsted; (b) Sítios de ácido de Lewis.



Fonte: Adaptado de Alaba *et al.* (2016); Cordeiro *et al.* (2011).

Assim como verificado para catálise homogênea, a literatura apresenta diferentes estudos sobre a aplicabilidade da catalise heterogênea no meio científico ou industrial.

Um trabalho bastante relevante na área de catálise heterogênea, foi realizado por Peterson e Scarrah (1984) em que 28 diferentes catalisadores básicos foram avaliados na produção seletiva de ésteres metílicos a partir de óleo de colza. Os experimentos realizados a pressão ambiente e com a temperatura variando entre 60 e 63°C, mostraram que o catalisador $\text{CaO} \cdot \text{MgO}$ foi o mais promissor entre todos, seguido por K_2CO_3 e $\text{K}_2\text{CO}_3 \cdot \text{MgO}$. Apesar do $\text{CaO} \cdot \text{MgO}$ ter apresentado melhores resultados, sua utilização também produziu quantidades elevadas de sais de ácidos graxos livres, produto indesejável no processo (Peterson e Scarrah, 1984).

Singh e Fernando (2008) avaliaram sete catalisadores heterogêneos de óxidos metálicos (MgO , CaO , PbO , PbO_2 , Pb_3O_4 , Tl_2O_3 e ZnO) na produção de biodiesel a partir da transesterificação do óleo de soja com metanol em diferentes temperaturas. Com características anfóteras, os catalisadores PbO e PbO_2 apresentaram as maiores conversões com valores superiores a 89% (Singh e Fernando, 2008).

Ainda utilizando óleo de colza como matéria-prima, Mohadesi *et al.* (2017), aplicaram a metodologia de superfície de resposta (MSR) para obter as condições ideais na síntese de biodiesel via transesterificação por metanol com o óxido misto de CaO/MgO como catalisador e hexano como co-solvente. A reação realizada em um microrreator equipado com microcanal, nas condições ideais, obtidas por MSR, permitiu uma síntese de 99,31% de ésteres metílicos em um tempo reacional de 10 minutos no microrreator. Outro fator importante, é que após ser reutilizado 5 vezes o catalisador misto de CaO/MgO ainda permitiu a sintetização de 95,12% de ésteres metílicos (Mohadesi *et al.*, 2017).

Booramurthy *et al.* (2020) desenvolveram um catalisador de zircônia nano-sulfatada dopada com férrico-manganês para produzir biodiesel de gordura de ovelha residual de curtume. Em condições ideais, obtiveram um rendimento de 98,7% sendo que o catalisador manteve rendimentos acima de 90% por cinco ciclos. O biodiesel produzido atendeu às normas avaliadas, viabilizando a aplicação industrial e reduzindo a poluição ambiental causada pelo descarte de resíduos de curtumes (Booramurthy *et al.*, 2020).

Gaide *et al.* (2022) avaliaram a eficácia de catalisadores obtidos a partir da casca de ovo na transesterificação do óleo de colza com metanol. Através MSR, os autores observaram que nas condições otimizadas do processo, o rendimento de ésteres foi de 97,79% em peso e que os biocombustíveis produzidos cumpriram as especificações do Comitê Europeu de Normalização (Gaide *et al.*, 2022).

Com foco na questão ambiental, a utilização de resíduos em reações de transesterificação tem sido cada vez mais buscadas por pesquisadores. Em pesquisa recente, Miyuranga *et al.* (2023) avaliaram a produção de biodiesel a partir de óleo de cozinha residual com o uso de catalisadores heterogêneos ácidos e básicos, a influência da acetona como co-solvente no meio reacional e os impactos das principais variáveis do processo. Em termos de rendimentos, o catalisador de Ba(OH)₂ teve maior efeito na produção de biodiesel, seguido pelo CaO que apesar de ter rendimentos menores, possui um menor custo para a produção de biodiesel em condições ideais. Os demais catalisadores (MgO, ZnO e o AlCl₃) demonstraram uma atividade extremamente fraca (Miyuranga *et al.*, 2023).

Diante do exposto, é evidente que as aplicações da catálise, seja homogênea ou heterogênea, abrangem uma ampla variedade de processos. À medida que os estudos se tornam mais detalhados e precisos, sobretudo na avaliação dos múltiplos parâmetros que influenciam o meio reacional, mais soluções podem ser encontradas para as questões ainda abertas neste tipo de reação.

2.2.3 Catálise enzimática

Diante das desvantagens apresentadas pelas catálises homogênea e heterogênea, a catálise enzimática oferece uma alternativa viável para reações de transesterificação, pois requer condições leves, permite fácil separação, produz produtos de alta pureza, pode ser usada em óleo de baixa qualidade e é ambientalmente favorável. Apesar dessas vantagens, seu uso ainda é menor devido ao alto custo dos catalisadores e aos longos tempos de reação (Baskar *et al.*, 2017; Rezende *et al.*, 2021; Rizwanul Fattah *et al.*, 2020a).

A catálise enzimática refere-se à aceleração e/ou ocorrência de reações químicas por enzimas, que são catalisadores biológicos. As enzimas são proteínas altamente específicas para seus substratos, ou seja, cada enzima catalisa uma reação bioquímica específica de forma que são classificadas, de acordo com a União Internacional de Bioquímica (IUB), em sete categorias baseadas no tipo de reação que catalisam, sendo as mais abundantes: Hidrolases (catalisando reações de hidrólise), oxidorredutases (catalisando reações de oxidação-redução) e transferases (catalisando a transferência de grupos funcionais entre moléculas) (McDonald e Tipton, 2023).

A IUB descreve cada enzima por uma sequência de quatro números precedidos por “CE” (*Enzyme Commission*), em que o primeiro dígito representa a classe e é baseado no tipo de reação que elas catalisam, o segundo dígito representa a subclasse e é indicado conforme os grupos ou ligações químicas atacadas pela enzima, o terceiro dígito indica a coenzima/cofator necessária para a ação da enzima e o quarto e último dígito, fornece o número de série da enzima individual (Chang *et al.*, 2021; ExplorEnz, [s.d.]; Robinson, 2015). A **Tabela 2.1** apresenta a classificação das enzimas.

Tabela 2.1 - Classificação das enzimas de acordo com a União Internacional de Bioquímica.

Classe	Designação	Tipo de reação que catalisa	Exemplos
CE 1	Oxidoreductases	Catalisam reações de oxirredução, através da transferência de um ou mais elétrons. $A_{red} + B_{oxd} \rightarrow A_{oxd} + B_{red}$	Desidrogenase Hidroxilase Oxidase Redutase
CE 2	Transferases	Catalisam reações nas quais um grupo funcional é transferido de um substrato para outro. $AB + C \rightarrow A + BC$	Metiltransferases Transcetolase Oximinotransferases Aminoaciltransferases
CE 3	Hidrolases	Catalisam reações em que dois produtos são formados a partir de um substrato através da transferência de grupos funcionais para a água (hidrólise) $AB + H_2O \rightarrow AOH + BH$	Lipase de triacilglicerol Acetilesterase Glicosidases Peptidase

CE 4	Liases	Catalisam reações que clivam as ligações C-C, C-O, C-N e outras ligações em que o grupo funcional é removido deixando uma ligação dupla. $X-A-B-Y \rightarrow A=B + X-Y$	Carboxiliases Aldolase Hidrolases Aminaliases Desidroclorinase
CE 5	Isomerases	Catalisam reações de transferência de grupos dentro da molécula produzindo formas isoméricas. $AB \rightarrow BA$	Racemases Epimerases Tautomerase Acilmutase
CE 6	Ligases	Catalisam a união de duas ou mais moléculas ou parte de uma molécula através da síntese de novas ligações e uma quebra simultânea de ATP ou um trifosfato semelhante. $X + Y + ATP \rightarrow XY + ADP + Pi$	tRNA ligases CoAligases Sintetases Cicloligases
CE 7	Translocases	Catalisam o movimento de íons ou moléculas através das membranas ou a sua separação dentro das membranas. $AX + B \parallel \rightarrow A + X + \parallel B$	NADH:ubiquinona redutase NAD(P)+transhidrogenase Ferrodoxina-quinona oxidoreductase Cuccinato desidrogenase

Fonte: Cornish-Bowden (2014); Explorenz, [2024]; Mcdonald; Tipton, (2023); Nc-Iubmb, (2024).

As enzimas utilizadas nas reações de transesterificação de óleos e gorduras são classificadas como CE 3.1.1.3 uma triacilglicerol lipase, oriunda de diferentes organismos. Esse tipo de enzima hidrolisa triglicerídeos em diglicerídeos e posteriormente em monoglicerídeos e ácidos graxos livres. Sua atuação ocorre na superfície das gotículas de óleo sendo que o acesso ao sítio catalítico é controlado pela abertura de uma tampa (*flap*) que ao ser fechada, esconde a superfície hidrofóbica que o envolve (Canet *et al.*, 2016; Kennedy, 1987; Xia *et al.*, 2024).

As triacilglicerol lipases utilizadas nas reações de transesterificação de óleos e gorduras, são obtidas a partir de diferentes microrganismos, tais como: *Aspergillus rhizomucor miehei*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Candida antarctica*, *Geotrichum candidum*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor javanicus*, *Penicillium*, *Burkholderia cepacia*, *Rhizopus oryza*, *Rhizomucor miehei*, *Pseudomonas fluorescens*, *Thermomyces lanuginosus*, *Yarrowia lipolytica* etc (Bajaj *et al.*, 2010b; Gog *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2014).

As Lipases comerciais, são nomeadas conforme interesse da empresa responsável, as Amano lipases, oriundas da indústria Merck são obtidas a partir de diferentes microrganismos, como *Mucor javanicus*, *Aspergillus niger*, *Pseudomonas fluorescens* e *Burkholderia cepacia*, sendo esta, uma das mais promissoras e utilizada como catalisador em reações de

transesterificação (Dulęba *et al.*, 2020; Ostojčić *et al.*, 2021; Sánchez *et al.*, 2018; Sasso *et al.*, 2016).

Anteriormente conhecida com *Pseudomonas cepacia*, os microrganismos do complexo *Burkholderia cepacia*, foram identificados pela primeira vez por William Burkholder, em 1950 que a identificou como a causa para o apodrecimento da cebola. Apesar do seu potencial patogênico, a *Burkholderia cepacia* tem sido amplamente estudada em aplicações biotecnológicas, devido a sua capacidade de produzir enzimas, biossurfactantes e outros compostos de interesse industrial (Burkholder, 1950; Mahenthiralingam *et al.*, 2008; Scoffone *et al.*, 2017; Speert, 2002; Wattanaphon *et al.*, 2008).

Seja qual for a origem da lipase, todas possuem o sítio catalítico composto pela tríade catalítica formada pelos aminoácidos serina (Ser), histidina (His) e o ácido aspártico (Asp) ou glutamato (Glu). Consequentemente, o mecanismo reacional é igual a quaisquer lipases, independentemente de qual reação for ocorrer (esterificação ou transesterificação).

2.3 ÁLCOOL

Na obtenção de biodiesel por transesterificação, o álcool reage com os triglicerídeos para formar misturas de ésteres (biodiesel) e glicerol, de forma que o álcool desempenha um papel fundamental, capaz de impactar significativamente a cinética da reação, o rendimento do produto e a viabilidade geral da produção de biodiesel, visto que diferentes álcoois podem exigir catalisadores ou condições específicas para uma transesterificação eficiente (Rodrigues *et al.*, 2008; Yusuf *et al.*, 2011).

A escolha do álcool que será utilizado em reação de transesterificação depende de vários fatores como custo, disponibilidade, reatividade, impacto ambiental etc. Além disso, suas moléculas não apresentam impedimento estérico que possam impactar na reação, de forma que álcoois de cadeia curta são favorecidos. Diversos álcoois já foram utilizados na obtenção de biodiesel, destacando o metanol e etanol como os mais empregados, devido as suas reatividades e disponibilidades (Y. Liu *et al.*, 2010; Musa, 2016; Szczęсна Antczak *et al.*, 2009; Yusuf *et al.*, 2011).

O metanol se destaca a frente dos demais álcoois pois é altamente reativo resultando em taxas de transesterificação mais altas. Com menor custo em sua maioria das vezes, permite ser uma escolha rentável para a produção de biodiesel, principalmente em larga escala. Mas devido a sua toxicidade, o metanol tem trazido diversas preocupações, com relação ao manuseio, ao armazenamento e principalmente a questão ambiental pois uma das formas de obtenção se dar

por meio de combustíveis fósseis (Athar e Zaidi, 2020; Klier, 1982; Sheldon, 2017; Tephly, 1991).

Com uma taxa reacional menor e por isso menos utilizado, o etanol tem se tornando uma opção razoável na busca por reações ambientalmente favorável, pois sendo produzido a partir de fontes renováveis, como biomassa, o torna uma opção mais sustentável em comparação ao metanol (Athar e Zaidi, 2020; Yusuf *et al.*, 2011).

Abreu *et al.* 2004 realizaram a transesterificação a partir de diferentes óleos vegetais (andiroba, babaçu, cumaru, dendê e piqui) e álcoois (metanol, etanol, propanol, *iso*-propanol, *n*-butanol, *terc*-butanol e *ciclo*-hexanol), sendo catalisada por complexos metálicos. Com a razão molar constante de 400:100:1(álcool:óleo:catalisador), foi verificado que os álcoois lineares reduziram as atividades reacionais com o aumento do comprimento da cadeia carbônica, com rendimentos inclusive menores que o ciclo-hexanol (Abreu *et al.*, 2004).

Micic *et al.* (2014) avaliaram o efeito de diferentes 3 tipos de álcoois supercríticos (metanol, etanol e propanol) na transesterificação de óleo de colza em que a presença de catalisador não se fez necessária. Outros parâmetros como temperatura de reação, pressão e tempo nos rendimentos também foram analisados. Com uma proporção molar álcool/óleo constante de 42:1, os autores verificaram que o processo a partir do metanol com rendimento de 93% apresentou os menores custos diretos de material e energia e foi alcançado após 15 min, a 350 °C e 12 Mpa de pressão. Para os demais parâmetros, o estudo mostrou que a temperatura teve o maior impacto nos rendimentos, seguido pelo tempo de ocorrência e pressão (MICIC *et al.* 2014).

Em estudo semelhante ao realizado por Micic *et al.* (2014), Kiss *et al.* (2014) avaliou além do efeito do álcool, temperatura de reação, pressão e do tempo nos rendimentos, o método de avaliação do ciclo de vida foi verificado na comparação dos impactos ambientais da produção de biodiesel a partir do metanol e etanol. A temperatura teve o maior impacto no rendimento, seguida pelo tempo e pela pressão, apesar que cada variável tem uma importância diferente para cada álcool utilizado. Contrariando a maioria dos relatos existentes na literatura a utilização de etanol em relação ao metanol não trouxe melhoras significativamente a sustentabilidade e a renovabilidade do processo, ocasionado principalmente pelo maior consumo do óleo por unidade de biodiesel produzido no processo (Kiss *et al.*, 2014).

Como já citado, a razão molar de álcool/óleo necessária para que uma reação completa de transesterificação ocorra é 3:1 (álcool:óleo), no entanto, proporções diferentes têm sido

avaliadas no processo reacional, de forma a verificar a influência dessas variações no rendimento dos produtos de interesse.

Em uma reação aprimorada por ultrassom de micro-ondas, Martínez-Guerra e Gude (2016) avaliaram o efeito das proporções do metanol/etanol na transesterificação do óleo de cozinha residual catalisada com NaOH, utilizando as razões (álcool:óleo) de 4,5:1, 6:1, 9:1 e 12:1. A proporção molar de 9:1 foi considerada ideal tanto para o etanol quanto para o metanol, com rendimentos de aproximadamente 98% e 96% de biodiesel respectivamente (Martínez-Guerra e Gude, 2016). Para o catalisador BaO Martínez- Martínez-Guerra e Gude (2014) obtiveram os maiores rendimentos na proporção 6:1 (álcool:óleo) (Martínez-Guerra e Gude, 2014). Já Yu *et al.* (2017), alcançaram os maiores rendimentos da transesterificação do óleo de soja com metanol e KOH como catalisador na proporção molar de 12:1 (álcool:óleo) (Yu *et al.*, 2017).

Com catalisadores metálicos suportados em peneiras moleculares mesoporosas, Cardoso *et al.* 2022, verificaram através do planejamento fatorial, que os maiores rendimentos de ésteres metílicos, a partir de óleo de soja, foram alcançados na razão molar etanol:óleo de 20:1. No entanto rendimentos parecidos foram obtidos para a razão molar 15:1, tendo este a vantagem de ter consumido menos de energia (Cardoso *et al.*, 2022).

Em reações de transesterificações sem auxílio de nenhuma outra técnica ou adição de solventes e com o catalisador KOH, Khan *et al.* (2023) obtiveram os melhores rendimentos na proporção (álcool:óleo) de 15:1 para o óleo de colza e 18:1 para reações para o óleo de girassol, tanto para o etanol quanto para o metanol, sendo o metanol proporcionou os maiores rendimentos (Khan *et al.*, 2023). Khiari *et al.* (2019) demonstram que nas condições ótimas, os maiores rendimentos foram obtidos para uma relação molar etanol/óleo de 9:1 para o óleo de lentisco catalisado por KOH (Khiari *et al.*, 2019). Já Hájek *et al.* (2020) em uma transesterificação metílica do óleo de colza na presença de butanol como co-solvente e KOH como catalisador, alcançaram os maiores rendimentos na proporção metanol:óleo:butanol de 6:1:2. Foi observado ainda, que a adição de butanol diminui significativamente o tempo de reação de 80 para 10 min para alcançar o mesmo rendimento, de forma que a adição de butanol causou maior rendimento do que apenas metanol ou butanol utilizados de forma isolada (Hájek *et al.*, 2020).

Apesar do metanol e etanol serem significativamente os mais utilizados, álcoois com cadeias maiores estão recebendo uma atenção importante para sua aplicação em reações de transesterificação. Hanh *et al.* (2009) na obtenção de biodiesel através da transesterificação de

trioleína com diversos álcoois (metanol, etanol, propanol, butanol, hexanol, octanol e decanol) por catálise homogênea básica, notaram que, com razão molar 6:1 (álcool:trioleína), o rendimento dependia do tipo de álcool, de modo que à medida que o número de carbono aumentava, menor era o rendimento. Dentro do mesmo trabalho, foram realizados testes com álcoois secundários (propano-2-ol, butano-2-ol, hexano-2-ol, octano-2-ol), no entanto houve pouca conversão de ésteres, o que segundo os autores ocorreu em virtude do impedimento estérico existente nas moléculas (Hanh *et al.*, 2009).

Semelhantemente, Mateos *et al.* 2021, avaliaram o uso da lipase da *Araujia sericifera* na transesterificação de óleo de cozinha residual, com metanol, etanol, propanol e butanol, em todos os casos rendimentos superiores a 90% foram alcançados, demonstrando não haver influência significativa entre os álcoois no rendimento (Mateos *et al.*, 2021).

Contrariando os trabalhos acima, em que álcoois de cadeia curta apresentaram maiores rendimentos, Saravanan *et al.* 2010 verificaram que a transesterificação com butanol proporcionou um melhor rendimento quando comparado com metanol e etanol. No entanto, vale citar que neste estudo foram utilizados catalisadores ácidos, o que pode ter influenciado no resultado diferente alcançado (Saravanan *et al.*, 2010).

De fato, um diferente catalisador pode influenciar no rendimento reacional, de forma que diferentes resultados poderão ser alcançados a partir de um mesmo álcool. Tanto que Rodrigues *et al.* 2008 na síntese de biodiesel por alcoólise de óleos vegetais catalisada por diferentes lipases comerciais, verificaram que cada lipase apresentou um rendimento diferente conforme álcool utilizado. N Novozym 435, a Lipozyme TL-IM e a Lipozyme RM-IM, alcançaram os maiores rendimentos com metanol, etanol e butanol respectivamente (Rodrigues *et al.*, 2008).

Assim, tem-se que a escolha entre os diferentes álcoois depende de um equilíbrio diversos fatores, incluindo custo, reatividade, metas de sustentabilidade, considerações de segurança, catalisadores, condições de processo etc.

2.4 ARIRI

2.4.1 Gênero *Syagrus*

O gênero *Syagrus* é pertencente à família das Arecaceae, espécies de palmeiras nativas da América do Sul (WFO, 2024). Essas espécies são encontradas em ambientes variados, desde florestas tropicais até áreas semiáridas como o Cerrado e a Caatinga (Kalwij, 2012; Noblick, 2017a; Sant'Anna-Santos *et al.*, 2023). A maioria das espécies do gênero é economicamente

relevante, com aplicações que vão desde a produção de óleo terapêuticos até o uso de suas fibras em artesanatos e construções (dos Santos Souza *et al.*, 2021; Pinheiro *et al.*, 1996).

Além disso, as palmeiras *Syagrus* desempenham um papel crucial na ecologia de diversas regiões, sendo fontes alimentares para várias espécies de animais, como aves e roedores (Aroucha e Aroucha, 2013; Crepaldi *et al.*, 2001).

Atualmente o gênero *Syagrus* é composto por quase 80 espécies que se diferenciam por diversas características morfológicas, ecológicas e funcionais (Sant'Anna-Santos *et al.*, 2023; WFO, 2024).

Um dos principais fatores de variação entre elas é o porte das palmeiras, que pode ir de pequenas plantas arbustivas a grandes árvores com troncos robustos. Além disso, há diversidade nas formas e tamanhos de suas folhas, que podem ser longas e arqueadas ou mais compactas e rígidas. Os frutos também variam em tamanho, coloração e composição, com alguns apresentando uma polpa mais fibrosa ou carnosa e outros frutos mais oleaginosos (Farias *et al.*, 2021; Freitas, 2022; Rocha *et al.*, 2022; Sant'Anna-Santos *et al.*, 2023).

O tipo de ambiente em que essas palmeiras se desenvolvem também é um diferencial marcante, com algumas espécies adaptadas a climas áridos e secos, enquanto outras prosperam em florestas tropicais úmidas ou regiões de cerrado (Kalwij, 2012; Noblick, 2017a; Sant'Anna-Santos *et al.*, 2023).

Entre as diversas espécies do gênero *Syagrus*, tem-se a *Syagrus cocoides* Martius popularmente conhecida como coco ariri.

2.4.2 *Syagrus cocoides* Martius

A *Syagrus cocoides* Martius (CENARGEN-743), é uma palmeira nativa do Brasil, sua existência já foi verificada nas regiões Norte, Nordeste e Centro-oeste, adaptando-se bem a solos pobres e arenosos, características que a tornam resistente em condições adversas (Almeida Júnior, 2015; Noblick, 2019; Soares, 2020).

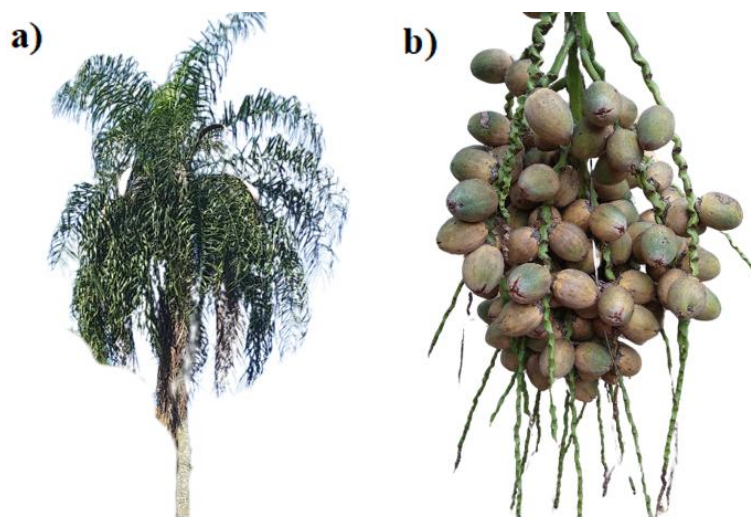
A depender da localidade que se encontra a palmeira de ariri, também pode ser conhecida como pati, lous, jatá, piririma, pererema, iriri, pupunha-brava, cunham-galinha, uapirima etc (Celestino, 2009; Noblick, 2017a, 2019).

Com uma variação de altura de 1,5 a 10 m, a palmeira de ariri possui um tronco fino e folhas plumosas com folíolos bem espaçados e estreitos, seus frutos com formato ovóides ou piriformes, medem até 6 cm de comprimento possuindo uma coloração castanho-amarelado

quando maduro (Andrade *et al.*, 2018; Celestino, 2009; Gomes-da-Silva *et al.*, 2022; Lisboa *et al.*, 2020; Lorenzi *et al.*, 2010; Noblick, 2017b, 2019; Pinheiro *et al.*, 1996).

A **Figura 2.7** apresenta a espécie *Syagrus cocoides* Martius e seu fruto.

Figura 2.7 - *Syagrus cocoides* Martius. a) Palmeira b) Fruto.



Fonte: Autor (2025).

O ariri é utilizado para diversos fins, seus frutos por serem comestíveis, servem de alimento para diferentes espécies de animais, principalmente roedores. Suas folhas, assim como outras espécies de palmeiras, podem ser utilizadas na cobertura de casas, em artesanatos, na confecção de cestos entre outros utensílios domésticos. Por apresentar certa beleza e robustez, ainda é frequentemente utilizada em projetos de paisagismo.

O óleo do ariri, obtido a partir de suas amêndoas é rico em ácidos graxos, especialmente o láurico e o mirístico (De La Salles *et al.*, 2010). Por possuir propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, o óleo do coco ariri vem sendo estudado para uso na prevenção de doenças cardiovasculares e no combate ao estresse oxidativo (Pires, 2020; Silva *et al.*, 2023).

A casca dos frutos também tem um importante papel energético, um estudo realizado por Oliveira (2018) demonstrou que a porcentagem de casca em relação ao peso total do fruto pode chegar a 59%, tornando-a uma fonte promissora de biomassa para a geração de energia (Oliveira, 2018).

Além das propriedades industriais e energéticas, a palmeira de ariri apresenta uma característica morfológica rara. Aproximadamente 16% das populações dessa espécie, especialmente no estado do Maranhão, apresentam ramificação bifurcada, uma peculiaridade

que desperta interesse para estudos de taxonomia e conservação (Coudert, 2017; Hallé, 2001; Pinheiro *et al.*, 1996).

Apesar de seu potencial, estudos realizados com a *Syagrus cocoides* Martius, especificamente com o fruto e/ou óleo são muito escassos. Os poucos trabalhos encontrados na literatura ainda não foram publicados em periódicos especializados (Bastos, 2020; Oliveira, 2018; Penha, 2023; Silva *et al.*, 2023). Moura *et al.* (2023) em um estudo de prospecção encontram somente 7 artigos relacionados a espécie, evidenciando a escassez de pesquisas sistematizadas sobre o ariri (Moura *et al.*, 2023).

2.5 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Nas reações de transesterificações que envolve TG não existe uma metodologia padronizada que possa ser aplicada para diferentes meios reacionais, sendo sempre necessário a realização de um planejamento experimental de modo a compreender como as variáveis existentes interagem entre si e quais delas são cruciais na obtenção dos melhores rendimentos para que ao final do processo tenha-se as condições operacionais favoráveis para a reação (Wissmann e Grover, 2009).

A depender do objetivo e da complexidade do sistema, diferentes técnicas de planejamento experimental podem ser aplicadas em reações de transesterificações, dentre eles tem-se: Doehlert (Ruschel *et al.*, 2016); Plackett-Burman (Ali *et al.*, 2010; Paintsil *et al.*, 2017); Composto Central (Costa *et al.*, 2013; Dias *et al.*, 2013) entre outros (Barros Neto *et al.*, 2010; Berger *et al.*, 2018; Wissmann e Grover, 2009), tendo destaque os planejamentos pela metodologia de Taguchi e a metodologia de superfície de resposta associada a outros modelos.

Dizge *et al.* 2008 realizaram a síntese de ésteres metílicos a partir de diversos óleos vegetais e catalisada pela lipase de *Thermomyces lanuginosus* imobilizada. Nesse estudo o planejamento experimental baseado na metodologia de Taguchi (Freddi e Salmon, 2019) foi realizado para a imobilização da lipase e para a produção dos ésteres. A metodologia demonstrou que a eficiência da imobilização da lipase foi afetada pela temperatura e tempo de imobilização e pelo fluxo enzimático, sendo que o tempo de imobilização foi o fator mais importante. Na formação dos ésteres metílicos, verificou-se que um aumento na proporção álcool:óleo eleva o rendimento dos produtos, que também é influenciado pelas variáveis únicas: fluxo de substrato, temperatura e tempo total de reação. Em contrapartida o aumento da quantidade de água teve efeito insignificante no rendimento reacional (Dizge *et al.*, 2009).

Semelhantemente Adewale *et al.* 2017 verificaram que razão molar do óleo para o metanol e o tempo de reação foram os dois parâmetros que mais influenciaram nos rendimentos e que após uma validação experimental o método Taguchi se mostrou um excelente método, pois previu de forma confiável as conversões dos triglicerídeos em biodiesel (Adewale *et al.*, 2017).

Ao contrário dos resultados acima, Moreira *et al.* 2020 utilizando o método Taguchi verificaram que entre os parâmetros estudados (teor de biocatalisador, razão molar do álcool:óleo, temperatura e tempo) apenas o teor de biocatalisador teve efeito significativo na conversão, sendo que os demais parâmetros não apresentaram resultado estatisticamente significativo, o que pode ser explicado em virtude dos reagentes utilizados serem diferentes dos anteriores (etanol, óleo de babaçu e lipase de *Rhizomucor miehei* imobilizados em nanopartículas (Moreira *et al.*, 2020).

Na busca pela otimização do meio reacional, constantemente aplica-se dois diferentes planejamentos, na qual a metodologia de superfície de resposta (MSR) associada principalmente ao planejamento fatorial e ao corpo central (DCC) tem se destacado.

Babaki *et al.* 2017 utilizaram as lipases imobilizadas de *Rhizomucor miehei* (RML) e *Candida antarctica* B (CALB) na transesterificação do óleo residual de palma com metanol. As variáveis: razão entre as enzimas, razão do solvente *t*-butanol para óleo, teor de adsorvente de água e tempo de reação foram avaliados através da MSR e DCC. Influenciado principalmente pela razão CALB:RML, os rendimentos máximos foram alcançados nas condições: CALB:RML de 3:1, razão *t*-butanol:óleo de 10% em peso, teor de adsorvente de água de 22,5% em peso e no tempo de reação de 10 h (Babaki *et al.*, 2017).

Shahedi *et al.* 2019 também verificaram que o aumento da quantidade CALB em relação a RML ocasiona maiores rendimentos, trazendo ainda melhorias em relação a estabilidade térmica e na estabilidade do metanol. Neste estudo as lipases foram co-imobilizadas e utilizadas na transesterificação óleo de palma com metanol. Por meio do DCC e da MSR, verificaram que as combinações ótimas para a reação foram obtidas na razão CALB:RML de 2,5:1, razão de *t*-butanol para óleo de 39,9% em peso, temperatura de 35,6 °C, razão metanol:óleo de 5,9: 1 e tempo de reação de 33,5 h (Shahedi *et al.*, 2019).

Guo *et al.*, (2020), na metanolise do óleo residual de palma catalisada pela lipase *Candida antarctica* A, aplicaram o planejamento fatorial de 3 níveis e 3 fatores, sendo que as variáveis e níveis selecionados foram teor de água (3%, 15% e 27%), tempo de transesterificação (4 h, 20 h e 36 h) e carga de lipase (1%, 5% e 9%). Conforme delineamento

MSR, verificaram que influência das condições de reação diminuiu na ordem teor de água > tempo de reação > carga enzimática obtendo as seguintes condições reacionais ótimas: 16,6% em peso de teor de água e 5,5% em peso de carga de lipase a 30 °C por 22 h (Guo *et al.*, 2020).

Finda-se, complementando que a aplicação de planejamentos experimentais não se resume a sistemas com biocatalisadores, podendo ser aplicados as mais diferentes formas de catálises (Colombo *et al.*, 2017; Costa *et al.*, 2013; Lopes *et al.*, 2022; Rashid *et al.*, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver bioprocesso para obtenção de bioproduto a partir da transesterificação de óleo do coco ariri com etanol utilizando biocatalisadores.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar e avaliar os parâmetros físico-químicos do óleo de ariri visando sua utilização em reações de transesterificação;
- Realizar cálculos de Química computacional para entendimento dos mecanismos reacionais envolvidos na transesterificação;
- Utilizar as enzimas Amano Lipase PS, de *Burkholderia cepacia* e Amano lipase PS-IM (imobilizada em terra diatomácea), como biocatalisadores para obtenção de bioprodutos por rota ambientalmente favorável;
- Avaliar as condições reacionais (razão molar e quantidade de catalisador) e como estas influenciam no rendimento da reação de transesterificação, para obter as melhores condições reacionais.

4 ROTAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS EM REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO

Artigo aceito no periódico “Revista da Universidade Vale do Rio Verde”

ISSN: 1517-0276 / EISSN: 2236-5362

Qualis – A4 (Biotecnologia 2017-2020)

RESUMO

Reações de transesterificação são amplamente utilizadas para obtenções de vários produtos. Para que ocorram de forma viável, é necessário a utilização de catalisadores nestas reações, eles funcionam promovendo a obtenção de melhores resultados. Os catalisadores utilizados em reações de transesterificação são classificados como homogêneos ou heterogêneos. Dentre os heterogêneos têm-se os catalisadores enzimáticos, também conhecidos como biocatalisadores, que em parte da literatura o classifica de forma separada. Apesar dos biocatalisadores serem utilizados a bastante tempo, não há uma rota definida para sua utilização, se diferenciando uma da outra desde os tipos de substratos utilizados, o tempo e a temperatura reacional, até a quantidade de catalisador usado. Diante dessas possibilidades, este trabalho apresenta uma revisão sobre rotas catalíticas utilizadas nas reações de transesterificação abordando características, vantagens e desvantagens, com destaque a utilização dos biocatalisadores, além das diferentes rotas disponíveis para que esse tipo de catálise aconteça com os melhores resultados.

Palavras-chave: Biocatálise. Lipases. Transesterificação

ABSTRACT

Transesterification reactions are commonly used to obtain various products. In order for these reactions to proceed successfully, catalysts must be used, as they promote the achievement of better results. The catalysts used in transesterification reactions are classified as homogeneous or heterogeneous. Heterogeneous catalysts include enzymatic catalysts, which are also known as biocatalysts, and are sometimes classified separately in the literature. Although biocatalysts have been used for a long time, there is no set route for their use, as they differ from each other in the type of substrates used, the reaction time and temperature, and the amount of catalyst used. Considering these possibilities, this paper presents a review of the catalytic processes used in transesterification reactions. The peculiarities advantages and disadvantages, emphasizing

on the use of biocatalysts, as well as the different routes available for this type of catalysis to achieve the best results, will be addressed.

Keywords: Palm trees. *Syagrus*. Biometry. Oil. Productivity.

INTRODUÇÃO

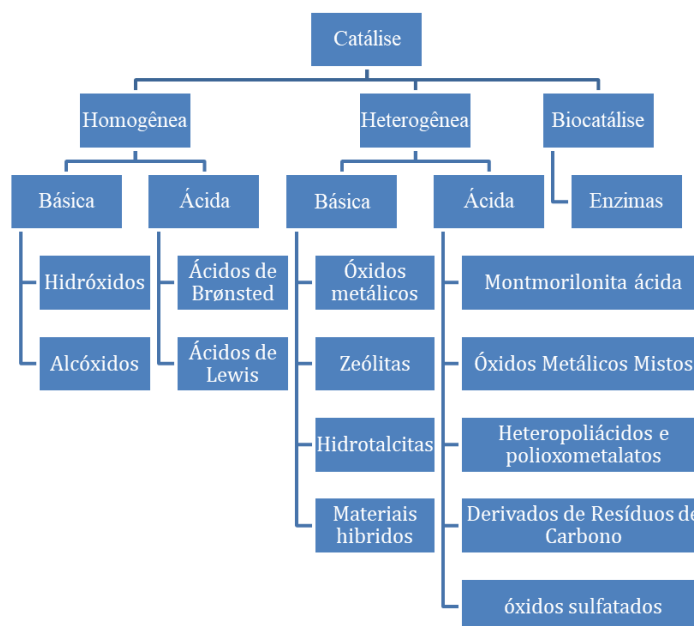
Uma reação química é caracterizada pela reorganização dos átomos em que compostos novos são formados de diversas maneiras e complexidades. É imensurável a importância das reações químicas para a humanidade, sendo útil em uma simples queima até na produção de medicamentos utilizados na cura de doenças graves. Entre as mais diversas reações químicas, cita-se a transesterificação em que um éster, na presença de catalisadores, reage com um outro composto obtendo um novo éster. A depender dos reagentes, a reação de transesterificação será denominada como interesterificação quando ocorre entre dois ésteres; acidólise quando ocorre entre um éster e um ácido carboxílico e alcoólise quando o éster reage com um álcool.

O uso das reações de transesterificação está consolidado no meio científico, através da sintetização de polímeros (Otera, 1993), na produção de compostos biologicamente ativos (Parmar *et al.*, 1992), na formulação de fármacos (Rao *et al.*, 2021) e principalmente na produção de biodiesel através da utilização de triglicerídeos (TG) oriundos do óleo vegetal, da gordura animal e dos óleos e gorduras residuais (Luna *et al.*, 2016; Mumtaz *et al.*, 2017). A transesterificação nesse caso, transforma os triglicerídeos em ésteres alquílicos através da troca da carboxila do ácido graxo por um grupo hidroxila oriundo de um álcool.

As etapas de transesterificação ocorrem de forma sequencial e reversível, sendo que na primeira etapa os triglicerídeos reagem com o álcool formando diglicerídeos que em sequência são convertidos em monoglicerídeos e glicerol, produzindo um éster alquílico em cada etapa. A reação estequiométrica necessita de 3 mols de álcool utilizado para cada 1 mol de triglicerídeo. Para que se obtenham maiores rendimentos dos ésteres alquílicos e permitir sua separação do glicerol, costuma-se utilizar excessos de álcool.

Para melhores resultados nas reações de transesterificação, são utilizados catalisadores que a depender do estado em que se encontram no meio reacional, podem ser divididos em homogêneos e heterogêneos e subdivididos em ácidos e básicos.

Na **Figura 4.1** é apresentado a classificação das catálises e os tipos de catalisadores utilizados nas reações de transesterificações.

Figura 4.1 - Classificação e tipos de catalisadores.

Fonte: Adaptado de Chouhane Sarma (2011); Nisar *et al.* (2021); Rezende *et al.* (2021) e Rizwanul Fattah *et al.* (2020).

Um sistema catalítico em que os reagentes e os componentes do catalisador se encontram em uma fase é conhecido como catálise homogênea, ocorrendo na maioria das vezes na fase líquida. Os catalisadores homogêneos são os mais aplicados na transesterificação de triglicerídeos, visto que são mais facilmente utilizados e requerem um menor tempo para que a reação ocorra, no entanto não é possível sua reutilização, necessitando que o produto seja lavado diversas vezes, fazendo com que produtos sejam desperdiçados. (Mandari e Devarai, 2022; Rizwanul Fattah *et al.*, 2020; Thangaraj *et al.*, 2019).

A catálise heterogênea ocorre quando o catalisador, geralmente no estado sólido, está em uma fase diferente dos reagentes que estão em estado líquido. Tal catálise tem se destacado diante de algumas desvantagens apresentadas por catalisadores homogêneos que possuem uso único, taxa de reação lenta, dificuldades na saponificação entre outras. Em contrapartida, catalisadores heterogêneos, são produzidos por rotas sintéticas, possuem maior seletividade, são menos onerosos pois o processo necessita de menos etapas, podem ser reutilizados já que são facilmente separados da mistura reacional e podem ser aplicados na transesterificação de diferentes matérias-primas. Apesar das vantagens e de seu crescente destaque, catalisadores heterogêneos possuem menores conversões de triglicerídeos em ésteres alquílicos, passando a exigir condições de reação mais severas quando comparadas em conversões homogêneas

(Borges e Díaz, 2012; Faruque *et al.*, 2020; Lee *et al.*, 2009; Mukhtar *et al.*, 2022). A Tabela 4.1 apresenta as principais vantagens e desvantagens das catálises homogênea e heterogênea.

Tabela 4.1 - Vantagens e desvantagens das catálises homogênea e heterogênea.

Tipo de catálise	Catalisador	Vantagens	Desvantagens
Catálise homogênea	Homogêneo básico	Elevada atividade catalítica Menor custo Amplamente disponível Não é corrosivo Ideal para substratos com baixo teor de AGL Reações rápidas e altas conversões Suaves condições reacionais	Formação de sabão Não é adequado para substratos com teor de AGL acima de 2% Não reutilizável Necessita de lavagem extensa Dificuldade na purificação dos produtos
	Homogêneo ácido	Elevada atividade catalítica Adequado para substratos com alto teor de AGL Não há formação de sabão Uso em fontes com TG de baixa qualidade	Menor taxa de reação Reação mais lenta que a catálise básica Separação e reutilização incomum Ocorrência de corrosão Condições reacionais mais severas Dificuldade na separação do catalisador do meio reacional
Catálise heterogênea	Heterogêneo básico	Fácil separação do catalisador Reutilização do catalisador Facilidade na purificação do produto Geração de efluentes reduzida Reação mais rápida que a catálise ácida	Alto custo de produção Possível lixiviação de sítios ativos Sensível a óleos com altos níveis de AGL
	Heterogêneo ácido	Reutilização do catalisador Fácil separação do catalisador Uso em fontes com TG de baixa qualidade	Alto custo de produção Altas razões molares álcool-óleo Altas concentrações de catalisador Maior tempo de reação Pode sofrer desativação Condições reacionais severas Lixiviação de sítios ativos do catalisador

Fonte: Baskar *et al.* (2017); Rezende *et al.* (2021) e Rizwanul Fattah *et al.* (2020)

CATÁLISE ENZIMÁTICA

Apesar dos catalisadores serem divididos em homogêneos e heterogêneos, há uma nova classificação que tem sido amplamente utilizada pela literatura que são os biocatalisadores. Também chamados de catalisadores enzimáticos os biocatalisadores vêm sendo classificados a parte, mesmo sendo incluídos na classificação heterogênea, muito provavelmente pela importância que tem se dado a ele.

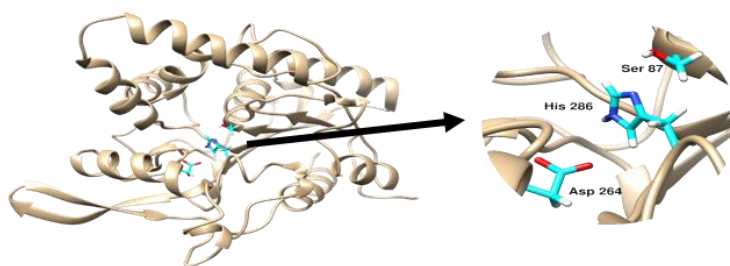
A reações de transesterificação utilizando catalisadores homogêneos ou heterogêneos, apresentam diversos problemas, citados anteriormente, que precisam ser contornados, como por exemplo a sensibilidade à pureza dos reagentes, a formação de emulsões, a necessidade de condições reacionais severas, questões ambientais etc. Nesse ponto a catálise enzimática surge

com uma excelente alternativa, pois as condições de reação são mais suaves, a demanda de energia é baixa, são pouco influenciadas pela qualidade da matéria-prima, geram menos subprodutos, podem tanto ser utilizadas na transesterificação quanto na esterificação e é ambientalmente favorável (Fjerbaek, *et al.*, 2009; Guldhe *et al.*, 2015, 2017; Santos, *et al.*, 2020; Yuzbasheva *et al.*, 2014).

As principais enzimas utilizadas na catálise enzimática e que serão objeto deste trabalho, são as lipases classificadas como *Enzyme Commission* (C.E) 3.1.1.3 que fazem parte dos grupos das hidrolases responsáveis pela hidrólise de ésteres (Kennedy, 1987). Em que se destacam: *Aspergillus Rhizomucor miehei*, *Bacillus thermocatenulatus*, *Candida antarctica*, *Geotrichum candidum*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor javanicus*, *Penicillium*, *Burkholderia cepacia*, *Rhizopus oryza*, *Rhizomucor miehei*, *Pseudomonas fluorescens*, *Thermomyces lanuginosus*, *Yarrowia lipolytica* etc (Bajaj *et al.*, 2010; Gog, *et al.*, 2012; Hwang, *et al.*, 2014)

Apesar de existirem diferentes lipases, todas elas possuem elementos estruturais em comum que é a tríade catalítica e o dobramento característico conhecido como α/β hidrolase. A tríade catalítica formada pelos aminoácidos serina (Ser), histidina (His) e o ácido aspártico (Asp) ou glutamato (Glu), compõem o sítio ativo onde ocorre o mecanismo reacional. A estrutura tridimensional da lipase *Burkholderia cepacia* (anteriormente chamada de *Pseudomonas cepacia*) em sua conformação aberta-ativa com seus sítios ativos são apresentados na **Figura 4.2**.

Figura 4.2 - Estrutura da lipase *Burkholderia cepacia* com uma tríade catalítica



Fonte: Adaptado de Rodrigues *et al.* (2021).

Uma vez que o sítio ativo é comum para quaisquer lipases, o mecanismo reacional é idêntico para todas e para qualquer reação que ocorrer (esterificação ou transesterificação). Na **Figura 4.3** temos o mecanismo de reação de transesterificação catalisada por lipase do tipo Ping Pong Bi-Bi.

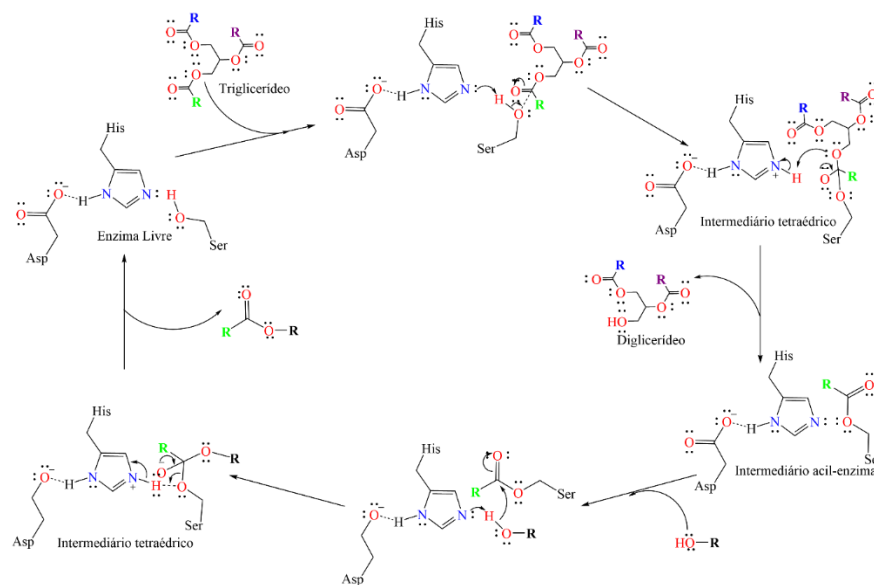
O mecanismo envolve duas etapas: uma etapa de acilação e outra de desacilação e ocorre no sítio ativo constituído pela tríade catalítica serina, histidina e ácido aspártico/glutamato. Na

acilação, a histidina, através de uma ligação de hidrogênio, aumenta a nucleofilicidade da hidroxila da serina que ataca o carbono carbonílico do triglicerídeo, levando a formação do intermediário tetraédrico que é estabilizado por ligações de hidrogênio entre o oxiânion e os grupos amidas dos resíduos das cadeias principais (Bousquet-Dubouch, *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2016; Gog, *et al.*, 2012; Jegannathan, *et al.*, 2008; Ribeiro, *et al.*, 2011).

A formação do complexo, faz com que um próton da serina seja transferido para a histidina e o aspartato, que é desprotonado, neutraliza parcialmente a carga positiva originada no complexo de transição. A histidina protonada perde o próton, ocorrendo a clivagem do intermediário tetraédrico que restabelece a ligação da carbonila, liberando o diglicerídeo como primeiro produto e a formação do intermediário acil-enzima finalizando assim a etapa de acilação (Bousquet-Dubouch, *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2016; Gog, *et al.*, 2012; Jegannathan, *et al.*, 2008; Ribeiro, *et al.*, 2011).

Na etapa de desacilação, a histidina e ácido aspártico auxiliam o ataque nucleofílico do álcool ao intermediário acil-enzima formando um segundo intermediário tetraédrico que se rearranja liberando uma molécula do éster reestabelecendo então a enzima que estará pronta para um novo ciclo em que novas moléculas de diglicerídeo e/ou monoglicerídeo serão formadas para que no final, da reação tenha-se a mistura de ésteres alquílicos e glicerol. (Bousquet-Dubouch, *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2016; Gog, *et al.*, 2012; Jegannathan, *et al.*, 2008; Ribeiro, *et al.*, 2011).

Figura 4.3 - Mecanismo de transesterificação da catálise enzimática



Fonte: Adaptado de Bousquet-Dubouch, *et al.* (2001); Castillo *et al.*, (2016); Gog, *et al.* (2012); Jegannathan, *et al.* (2008); Ribeiro, *et al.* (2011)

As lipases podem ser utilizadas nas reações de transesterificação na forma livre ou imobilizada. As imobilizadas, geralmente, apresentam melhor estabilidade reacional, atividade e tolerância frente aos álcoois, estabilidade térmica e resistência a solventes e facilidade de recuperação. A principal técnica de imobilização é a adsorção sendo utilizados outros métodos como ligação iônica e covalente, reticulação, aprisionamento, encapsulamento e interações hidrofóbicas (Aguieiras, *et al.*, 2015; Gog *et al.*, 2012; Jegannathan, *et al.*, 2008; Narwal e Gupta, 2013)

Apesar de sua crescente utilização, o uso das lipases ocorre em menor frequência que outros catalisadores, provavelmente pelo longo tempo reacional, e pelos maiores custos, por conta disso, diferentes procedimentos metodológicos buscam contornar essas barreiras para favorecer seu uso.

Diversas fontes de lipase têm sido utilizadas, se destacando *Burkholderia cepacia* e *Candida antarctica* na forma imobilizadas ou livre, obtendo excelentes resultados.

Embora os trabalhos possuam diferentes metodologias, é comum que os estudos avaliem, sobre as perspectivas de rendimento: a influência no tipo do álcool, sua razão com o óleo, a carga e o tipo de catalisador, a quantidade da água, o tempo e a temperatura. A relação dos solventes e a agitação utilizada é muito pouco avaliada em virtude de sua baixa influência na reação.

Na **Tabela 4.2** é apresentada rotas experimentais para o uso de biocatalisadores nas reações de transesterificações.

Baron *et al.*, (2014) utilizaram a *Burkholderia cepacia* imobilizada em suporte hidrofóbico, na transesterificação do óleo de soja com etanol em diversas razões do álcool com óleo e em diferentes cargas do catalisador, alcançando rendimentos de 90% numa razão molar (álcool:óleo) de 1:3, 30°C/6h e uma carga de catalisador em 4,5%. Ma *et al.*, (2017) obtiveram 95,42% de rendimento utilizando essa lipase em emulsões estáticas e em diferentes solventes orgânicos, os resultados foram obtidos nas condições otimizadas de 1:5 para razão molar do álcool:óleo à 50°C/30 h de reação, a melhor razão do solvente (n-hexano) foi de 1:2 (massa do substrato/volume solvente) para uma carga do catalisador de 83,3% em relação ao substrato utilizado. É importante destacar que a carga do catalisador utilizada por Ma *et al.*, (2017) aparentemente é alta quando comparado com outros trabalhos, no entanto, deve-se ponderar que massa da enzima contida efetiva contida na carga é muito menor e em virtude de sua imobilização.

Noureddini *et al.*, (2005) ao compararem a transesterificação do óleo soja utilizando a lipase *Burkholderia cepacia* na forma livre e imobilizada, com metanol e etanol, obtiveram menores resultados para a enzima livre, com rendimentos de 36% na reação com etanol e 41% com metanol, assim, a otimização do processo foi realizada somente para a lipase imobilizada que alcançou rendimentos de 65 e 67% quando utilizado o etanol e o metanol, respectivamente. O maior rendimento para o metanol foi obtido com a razão molar (álcool:óleo) em 1:7,5; carga do catalisador em 0,475%; teor de água em 0,5% e tempo de reação de 1h a 35°C. Para o etanol a otimização ocorreu com uma razão molar em 1:15,2; carga do catalisador em 0,475%; teor de água em 0,3% e tempo de reação de 1h a 35°C.

Tabela 4.2 - Condições experimentais em reações de transesterificação utilizando biocatalisadores.

Fonte da lipase	Óleo	Álcool	Teor de água	Solvente	Duração máxima	Melhores rendimentos	Condições do processo para os melhores resultados	Referência
<i>Burkholderia cepacia</i>	Óleo de girassol	Metanol	-	-	24h	>99%	Razão molar em 1:3,4; carga de lipase de 250 U/g de mistura de reação; 1h e 50°C	(Ostojčić <i>et al.</i> , 2021)
	Óleo de mamona	Etanol	-	-	24h	98%	Razão molar em 1:3, etanol adicionado em uma etapa; carga do catalisador em 4,5%; 6h e 30°C	(Baron <i>et al.</i> , 2014)
	Óleo de pinhão manso	Etanol	0 a 20% (em peso do substrato)	-	24h	100%	Razão molar em 1:10; carga do catalisador em 52%; teor de água em 20%; 8h; 35°C e 6g de RCF	(Abdulla e Ravindra, 2013)
		Metanol	1 a 12% (em peso do substrato)	-	30h	94%	Razão molar em 1:1,6, metanol adicionado de 3h em 3h; carga do catalisador em 10%; 24h e 35°C	(You <i>et al.</i> , 2013)
	Óleo de soja	Etanol	-	n-hexano, <i>terc</i> -butanol e n-heptano	30h	95,42%	Razão molar em 1:5; carga do catalisador em 83,3%; razão do solvente em 1:2; 30 h e 50°C	(Ma <i>et al.</i> , 2017)
		Etanol	0,5 a 2% (em peso do substrato)	-	5h	65%	Razão molar em 1:15,2; carga do catalisador em 0,475%; teor de água em 0,3%; 1h e 35°C	(Noureddini <i>et al.</i> , 2005)
		Etanol	0,5% (em peso do substrato)	-	1h	36%	***	(NOUREDDINI <i>et al.</i> , 2005)
		Metanol	0,5 a 2% (em peso do substrato)	-	5h	67%	Razão molar em 1:7,5; carga do catalisador em 0,475%; teor de água em 0,5%; 1h e 35°C	(Noureddini <i>et al.</i> , 2005)
		Metanol	0,5 a 2% (em peso do substrato)	-	1h	41%	***	(Noureddini <i>et al.</i> , 2005)
		Metanol	0 a 20% (em peso do substrato)	-	60h	78%	Razão molar em 1:6; carga do catalisador em 20%; teor de água em 10%; 60h e 45°C	(Rafiei <i>et al.</i> , 2018)
	Óleo de soja	Metanol	0 a 20% (em peso do substrato)	-	60h	78%	Razão molar em 1:6; carga do catalisador em 20%; teor de água em 10%; 60h e 45°C	(Rafiei <i>et al.</i> , 2018)

Fonte: Elaborada pelos autores

Tabela 4.2: Condições experimentais em reações de transesterificação utilizando biocatalisadores. Continuação

Fonte da lipase	Óleo	Álcool	Teor de água	Solvente	Duração máxima	Melhores rendimentos	Condições do processo para os melhores resultados	Referência
<i>Candida antarctica</i>	Óleo de colza	Metanol	0 a 5% (em peso do substrato)	-	32h	89,40%	Razão molar em 1:6; carga do catalisador em 20%; teor de água em 2%; 24h e 45°C	(Miao <i>et al.</i> , 2018)
	Óleo de cozinha residual	Metanol	-	-	12h	98,50%	Razão molar em 1:2,63; carga do catalisador em 2,2%; 8,11h e 45,97°C	(Wang <i>et al.</i> , 2018)
	Óleo de palma para fritura	Metanol	3 a 27% (em peso do substrato)	-	36h	~95%	Razão molar em 1:7; carga do catalisador em 5,5%; teor de água em 16,6%; 22h e 30°C	(Guo <i>et al.</i> , 2020)
	Óleo de pinhão manso	Metanol	-	-	24h	95,50%	Razão molar em 1:5; carga do catalisador em 7,3%; 14h e 37,5°C	(Wang <i>et al.</i> , 2018)
	Óleo de soja	Etanol	0,1 a 4% (em volume do álcool)	-	24h	89%	Razão molar em 1:10; carga do catalisador em 5%; teor de água em 1%; 24h e 32°C	(Rosset <i>et al.</i> , 2011)
	Óleo de soja (acidez de 0,5, 8,5, 50 e 90)	Etanol	-	-	4h	73%	Razão molar em 1:3; carga do catalisador em 9%; acidez 0,5; 4h e 70°C	(Pedro <i>et al.</i> , 2017)
	Óleo manjerição	Metanol	-	-	72h	94,60%	Razão molar em 1:10; carga do catalisador em 6%; 68h e 47°C	(Amini <i>et al.</i> , 2017)
<i>Candida antarctica/R hizomuc miehei</i>	Óleo de cozinha residual	Metanol	-	<i>Terc</i> -butanol	25h	95,60%	Razão molar em 1:3; razão entre as enzimas de 3:1; teor do solvente em 10%; 10h e 50°C	(Babaki <i>et al.</i> , 2017)
	Óleo de palma	Metanol	-	<i>Terc</i> -butanol	36h	78,30%	Razão molar em 1:5,9; razão entre as enzimas de 2,5:1; teor do solvente em 39,9%; 33,5h e 35,6°C	(Shahedi <i>et al.</i> , 2019)
<i>Candida sp.</i>	Óleo de salada	Metanol	0 a 40% (em peso do substrato)	Acetona, benzeno, clorofórmio, tolueno, éter de petróleo, ciclohexano, n-hexano e n-heptano	60h	96%	Razão molar em 1:3, metanol adicionado em três etapas; teor de água em 20%; solvente: n-hexano; 60 h e 40°C	(Nie <i>et al.</i> , 2006)

Fonte: Elaborada pelos autores

Tabela 4.2: Condições experimentais em reações de transesterificação utilizando biocatalisadores. Continuação

Fonte da lipase	Óleo	Álcool	Teor de água	Solvente	Duração máxima	Melhores rendimentos	Condições do processo para os melhores resultados	Referência
<i>Chromobacterium viscosum</i>	Óleo de pinhão manso	Etanol	0 a 2% (em peso do substrato)	-	8h	73%	Razão molar em 1:4; carga do catalisador em 15%; teor de água em 1%; 8h e 40°C	(Shah <i>et al.</i> , 2004)
		Etanol	0 a 2% (em peso do substrato)	-	25h	92%	Razão molar em 1:4; carga do catalisador em 10%; teor de água em 1%; 8h e 40°C	(Shah <i>et al.</i> , 2004)
<i>Oreochromis niloticus</i>	Óleo de cozinha residual	Metanol	1 a 9% (em peso do substrato)	-	36h	96,50%	Razão molar em 1:4; carga enzimática de 30 kUnit; teor de água em 3%; 28h e 45°C	(Patchimpet <i>et al.</i> , 2020)
<i>Pseudomonas fluorescensa</i>	Óleo de palma	Etanol	-	-	72h	~98%	Razão molar em 1:18; carga do catalisador em 20%; 24h e 58°C	(Moreira <i>et al.</i> , 2007)
<i>Rhizomucor miehei</i>	Óleo de soja (acidez de 0,5, 8,5, 50 e 90)	Etanol	-	-	4h	52%	Razão molar em 1:3; carga do catalisador em 9%; acidez 50; 4h e 40°C	(Pedro <i>et al.</i> , 2017)
	Óleo de milho	Etanol (absoluto, 96% e 70%)	-	-	48h	98,95%	Razão molar em 1:6; lcool absoluto; carga do catalisador em 2,8%; 12h e 35°C	(Mata <i>et al.</i> , 2012)
<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Óleo de palma	Etanol	-	Terc-butanol	48h	89,90%	Razão molar em 1:4; carga do catalisador em 20%; razão do solvente em 1:1; 24 h e 45°C	(Raita <i>et al.</i> , 2010)
	Óleo de soja	Metanol	-	-	33h	94%	Razão molar em 1,5:1; carga do catalisador em 40%; 4h e 45°C	(Xie e Ma, 2010)
	Óleo de soja (acidez de 0,5, 8,5, 50 e 90)	Etanol	-	-	4h	50%	Razão molar em 1:3; carga do catalisador em 9%; acidez 0,5; 4h e 50°C	(Pedro <i>et al.</i> , 2017)
<i>Thermomyces lanuginosus/Candida antarctica</i>	Óleo de colza	Metanol		Terc-butanol	25h	95%	Razão molar em 1:4; carga do catalisador em 4%; 12h e 35°C	(Li <i>et al.</i> , 2006)

Fonte: Elaborada pelos autores

Outra fonte de lipase que merece destaque é a *Thermomyces lanuginosus*. Xie e Ma (2010), utilizando na forma imobilizada, obtiveram 94% de rendimentos ao reagirem óleo de soja e metanol na razão de 1,5:1; uma carga do catalisador de 40% em um sistema reacional de 4h a 45°C, no mesmo trabalho, os autores utilizaram o catalisador por 3 vezes sem diminuição significativa da sua atividade o que permite sua reutilização ocasionando uma redução nos custos de processo.

Raita *et al.* (2010) na etanólise biocatalítica de óleo de palma em sistema com o solvente *tert*-butanol em que o catalisador consistia em microcristais revestidos de proteína da lipase *Thermomyces lanuginosus*, demonstraram que a adição do *tert*-butanol permitiu rendimentos de aproximadamente 90%, corroborando com a proposta que o *tert*-butanol aumentar a atividade catalítica e a estabilidade operacional das lipases (Li *et al.*, 2006).

Pedro *et al.* (2017), utilizando o óleo de soja como substrato, alcançou apenas 50% de rendimento, valores muito abaixo dos obtidos por Xie e Ma (2010) que utilizaram tanto o mesmo substrato quanto o álcool. Essa redução no rendimento pode ter sido influenciada pela acidez dos óleos utilizados que variaram de 0,5 a 90, além disso, não houve otimização das condições experimentais, o que poderiam levar a melhores resultados.

Na busca por maiores rendimentos, a combinação de lipases imobilizadas oferece uma boa alternativa. Com esse objetivo, Li *et al.* (2006), avaliaram o uso combinado de *Thermomyces lanuginosus* e *Candida antarctica* na metanólise do óleo de colza em sistema com o solvente *tert*-butanol obtendo 95% de rendimento ao utilizar uma mistura formada por 3% de *Thermomyces lanuginosus* e 1% de *Candida antarctica* em uma razão molar metanol/óleo de 4:1, sendo que a atividade catalítica da mistura ficou praticamente inalterada quando reutilizadas por 200 vezes. Shahedi *et al.*, (2019) e Babaki *et al.*, (2017) também trabalharam com essa metodologia, utilizando a combinação das lipases *Candida antarctica* e *Rhizomucor miehei* alcançando 78,30 e 95,6% de rendimentos respectivamente através da metodologia de superfície de resposta (RSM)

Quanto ao tipo de álcool, o etanol e metanol são mais utilizados, provavelmente por serem produzidos em maior escala e consequentemente mais baratos (Szcześna Antczak *et al.*, 2009). Álcoois de cadeias maiores já foram estudados em reações de transesterificação, mas esse número tem se reduzido, muito em virtude do possível impedimento estérico (Abigor *et al.*, 2000; Musa, 2016; Nelson; Foglia; Marmer, 1996).

Mesmo sendo menos utilizado, o uso do etanol dever ser avaliado de forma positiva, visto que além de suas transesterificações apresentarem excelentes resultados com rendimentos

acima de 90% (Abdulla; Ravindra, 2013; Baron *et al.*, 2014; Ma, Li *et al.*, 2017; Mata *et al.*, 2012; Moreira *et al.*, 2007; Shah *et al.*, 2004), sua obtenção é feita por rota amigável, diferente do metanol que é oriundo do petróleo.

Outro fator que deve ser levado em consideração no processo reacional é a quantidade de álcool a ser utilizado, conforme já frisado, a reação estequiométrica necessita de 3 mols de álcool para cada 1 mol de triglicerídeo, portanto, a razão molar álcool/óleo deve partir desse princípio.

Os trabalhos utilizados para esta revisão, utilizaram uma razão molar álcool/óleo de 1:1 até aproximadamente 1:27 o que demonstra uma certa dificuldade em se manter uma metodologia, para esse tipo de reação, na qual uma mesma quantidade de álcool poderá resultar em diferentes rendimentos. Seja qual for a razões molar utilizada, esperasse que as reações ocorram com excesso de álcool para que se tenha além do aumento na miscibilidade um maior contato entre a molécula de álcool e o triglicerídeo (Musa, 2016). Fato esse corroborados com os trabalhos citados na Tabela 2, em que os maiores rendimentos foram obtidos com a razão molar álcool/óleo acima de 1:4, embora alguns trabalhos com metanol tiveram suas otimizações abaixo da estequiometria mínima necessária (Wang *et al.*, 2018; You *et al.*, 2013), algo condizente, já que poderá ocorrer a desnaturação da lipase devido à sua toxicidade, caso a razão molar de metanol para óleo no sistema exceda 1:1 (Nie *et al.*, 2006).

Ainda com relação a utilização do álcool no meio reacional, deve ser levado em consideração, a maneira que o álcool é adicionado na reação, se no início ou durante a reação. You *et al.* (2013) avaliaram as influências da adição do metanol (uma etapa e nos intervalos de 8, 5 e 3 h) no rendimento de uma reação que durou 30 h. Os autores verificaram que o maior rendimento foi obtido quando a adição ocorreu nos intervalos de 3 h, embora a adição em intervalos de 5 h também teve bons resultados, indicando que qualquer que seja o intervalo de 5 ou 3 h, a concentração de metanol no meio reacional não será tóxica para a lipase não tendo, portanto, efeitos negativos. Nie *et al.* (2006) obtiveram os melhores resultados quando o metanol foi adicionado em intervalos de 10 h em uma de reação que durou 30 h. Intervalos de tempo menores não alteram os rendimentos.

Baron *et al.* (2014) na etanolise do óleo de mamona, não obtiveram diferenças significativas para o etanol adicionado todo no início ou em dois momentos. Outros trabalhos optaram por adicionar o álcool em mais de uma etapa, mas a influência sobre o rendimento não foi verificada (Amini *et al.*, 2017; Babaki *et al.*, 2017; Miao *et al.*, 2018; Pedro *et al.*, 2017; Rafiei *et al.*, 2018).

Seja qual for a lipase utilizada, o tempo de reação, a razão molar ou tipo de álcool utilizada nas reações de transesterificação, o objetivo dos pesquisadores sempre será pela otimização do processo, mas sempre há a possibilidade de se obter rendimentos consideráveis mesmo não utilizando as condições otimizadas.

Wang *et al.* (2018) utilizando a forma livre da lipase oriunda da *Candida antarctica* obtiveram 95,50% de rendimento, com a razão molar de 1:5, carga do catalisador em 7,3%, tempo de reação de 14h e temperatura de 37,5°C. Esse mesmo estudo obteve 94,53 % ao reduzir o tempo reacional para 10 h, nas mesmas condições de razão molar, carga do catalisador e temperatura, ou seja, uma redução de 4 h, se torna mais vantajoso pois menos de 1% ésteres alquílicos deixaram de ser produzidos.

Considerando-se ainda o tempo reacional, Guo *et al.* (2020) obtiveram um rendimento em torno de 95% em 22 h de reação e 66% em 4 h, de modo que mesmo com um menor rendimento é de considerar os resultados, pois houve uma redução considerável do tempo reacional.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca por maiores rendimentos nas reações de transesterificação, tem permitido que diversos catalisadores sejam utilizados para que esse objetivo seja alcançado nos menores custos possíveis. Nesse contexto as lipases, tem sido objeto de estudo interessante, visto que seguem um caminho ambientalmente amigável principalmente quando seu uso está atrelado ao etanol.

As lipases oriundas da *Burkholderia cepacia* e *Candida antarctica* tem sido os principais catalisadores utilizados, no entanto, seus altos custo fazem com que metodologias sejam propostas para minimiza a quantidade utilizada e maximizar os rendimentos obtidos. Para isso tem levado em consideração diversos fatores que possivelmente influenciarão nos rendimentos alcançados, como a origem do óleo, o tipo e a quantidade de álcool utilizado, a carga da lipase aplicada como catalisador, a água e outros solventes envolvidos no sistema reacional e ainda o tempo e a temperatura em que os resultados foram obtidos.

É notório a dificuldade que se tem ao realizar uma comparação detalhada entre os trabalhos, pois não há uma padronização das variáveis utilizadas, alguns avaliam a influência de todas as variáveis possíveis enquanto outros reduzem esse número, de modo que resultados diferentes podem ser alcançados utilizando um mesmo óleo, lipase ou álcool.

Diante do que foi observado, a busca por procedimentos que trará melhores resultados para as reações de transesterificações deve seguir uma constante atualização, buscando torna a catálise enzimática competitiva para esse tipo de processo.

REFERÊNCIAS

- Abdulla, R. Ravindra, P. (2013). Immobilized Burkholderia cepacia lipase for biodiesel production from crude Jatropha curcas L. oil. *Biomass and Bioenergy*, 56, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.04.010>
- Abigor, R. D., Uadia, P. O., Foglia, T. A., Haas, M. J., Jones, K. C., Okpefa, E., Obibuzor, J. U. Bafor, M. E. (2000). Lipase-catalysed production of biodiesel fuel from some Nigerian lauric oils. *Biochemical Society Transactions*, 28(6), 979–981. <https://doi.org/10.1042/bst0280979>
- Aguiéiras, E. C. G., Cavalcanti-Oliveira, E. D. Freire, D. M. G. (2015). Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. *Fuel*, 159, 52–67. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2015.06.064>
- Amini, Z., Ong, H. C., Harrison, M. D., Kusumo, F., Mazaheri, H. Ilham, Z. (2017). Biodiesel production by lipase-catalyzed transesterification of Ocimum basilicum L. (sweet basil) seed oil. *Energy Conversion and Management*, 132, 82–90. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2016.11.017>
- Babaki, M., Yousefi, M., Habibi, Z. Mohammadi, M. (2017). Process optimization for biodiesel production from waste cooking oil using multi-enzyme systems through response surface methodology. *Renewable Energy*, 105, 465–472. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.12.086>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N. Mehrotra, R. (2010). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Baron, A. M., Barouh, N., Barea, B., Villeneuve, P., Mitchell, D. A. Krieger, N. (2014). Transesterification of castor oil in a solvent-free medium using the lipase from Burkholderia cepacia LTEB11 immobilized on a hydrophobic support. *Fuel*, 117, 458–462. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.09.065>
- Baskar, G., Aiswarya, R., Soumiya, S., Mohanapriya, N. Roselin Nivetha, S. (2017). Recent Advances in Heterogeneous Catalysts for Biodiesel Production. *Journal of Energy and Environmental Sustainability*, 4, 1–5. <https://doi.org/10.47469/JEES.2017.v04.100038>

- Borges, M. E. Díaz, L. (2012). Recent developments on heterogeneous catalysts for biodiesel production by oil esterification and transesterification reactions: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 2839–2849. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.071>
- Bousquet-Dubouch, M. P., Graber, M., Sousa, N., Lamare, S. Legoy, M. D. (2001). Alcoholysis catalyzed by *Candida antarctica* lipase B in a gas/solid system obeys a Ping Pong Bi Bi mechanism with competitive inhibition by the alcohol substrate and water. *Biochimica et biophysica acta*, 1550(1), 90–99. [https://doi.org/10.1016/s0167-4838\(01\)00273-4](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(01)00273-4)
- Castillo, E., Casas-Godoy, L. Sandoval, G. (2016). Medium-engineering: a useful tool for modulating lipase activity and selectivity. *Biocatalysis*, 1(1). <https://doi.org/10.1515/boca-2015-0013>
- Chouhan, A. P. S. Sarma, A. K. (2011). Modern heterogeneous catalysts for biodiesel production: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4378–4399. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2011.07.112>
- de A. Rodrigues, C., Barbosa, M. S., dos Santos, J. C. B., Lisboa, M. C., Souza, R. L., Pereira, M. M., Lima, Á. S. Soares, C. M. F. (2021). Computational and experimental analysis on the preferential selectivity of lipases for triglycerides in Licuri oil. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 44(10), 2141–2151. <https://doi.org/10.1007/s00449-021-02590-y>
- Ebrahim, S., Amini, G., Younesi, H. D. Najafpour, G. (2012). Production of Biodiesel Using Soybean Oil Catalyzed by Porcine Pancreas Lipase in a Solvent Free System. *Middle East Journal of Scientific Research*, 11, 1323–1327.
- Faruque, M. O., Razzak, S. A. Hossain, M. M. (2020). Application of Heterogeneous Catalysts for Biodiesel Production from Microalgal Oil—A Review. *Catalysts*, 10(9), 1025. <https://doi.org/10.3390/catal10091025>
- Fjerbaek, L., Christensen, K. V. Norddahl, B. (2009). A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(5), 1298–1315. <https://doi.org/10.1002/BIT.22256>
- Gog, A., Roman, M., Toşa, M., Paizs, C. Irimie, F. D. (2012). Biodiesel production using enzymatic transesterification – Current state and perspectives. *Renewable Energy*, 39(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.08.007>
- Guldhe, A., Singh, B., Mutanda, T., Permaul, K. Bux, F. (2015). Advances in synthesis of biodiesel via enzyme catalysis: Novel and sustainable approaches. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 41, 1447–1464. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2014.09.035>

- Guldhe, A., Singh, P., Ansari, F. A., Singh, B. Bux, F. (2017). Biodiesel synthesis from microalgal lipids using tungstated zirconia as a heterogeneous acid catalyst and its comparison with homogeneous acid and enzyme catalysts. *Fuel*, 187, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.053>
- Hwang, H. T., Qi, F., Yuan, C., Zhao, X., Ramkrishna, D., Liu, D. Varma, A. (2014). Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Protein engineering and lipase production. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(4), 639–653. <https://doi.org/10.1002/bit.25162>
- Jaeger, K.-E. Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00341-5)
- Javed, S., Azeem, F., Hussain, S., Rasul, I., Siddique, M. H., Riaz, M., Afzal, M., Kouser, A. Nadeem, H. (2018). Bacterial lipases: A review on purification and characterization. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*, 132, 23–34. <https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2017.07.014>
- Jegannathan, K. R., Abang, S., Poncelet, D., Chan, E. S. Ravindra, P. (2008). Production of Biodiesel Using Immobilized Lipase—A Critical Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 253–264. <https://doi.org/10.1080/07388550802428392>
- Kennedy, J. F. (1987). *Biotechnology: Enzyme Technology* (H. Rehm e G. Gerald Reed, Orgs.; Vol. 7). Wiley VCH.
- Lee, D.-W., Park, Y.-M. Lee, K.-Y. (2009). Heterogeneous Base Catalysts for Transesterification in Biodiesel Synthesis. *Catalysis Surveys from Asia*, 13(2), 63–77. <https://doi.org/10.1007/s10563-009-9068-6>
- Li, L., Du, W., Liu, D., Wang, L. Li, Z. (2006). Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 43(1–4), 58–62. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.06.012>
- Luna, C., Luna, D., Calero, J., Bautista, F. M., Romero, A. A., Posadillo, A. Verdugo-Escamilla, C. (2016). Biochemical catalytic production of biodiesel. Em *Handbook of Biofuels Production* (p. 165–199). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00007-2>
- Ma, L., Zhou, L., Jiang, Y., He, Y., Wang, L. Gao, J. (2017). Lipase based static emulsions as efficient biocatalysts for biodiesel production. *Journal of Chemical Technology e Biotechnology*, 92(6), 1248–1255. <https://doi.org/10.1002/jctb.5118>

- Mandari, V. Devarai, S. K. (2022). Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a Critical Review. *BioEnergy Research*, 15(2), 935–961. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w>
- Mata, T. M., Sousa, I. R. B. G., Vieira, S. S. Caetano, N. S. (2012). Biodiesel Production from Corn Oil via Enzymatic Catalysis with Ethanol. *Energy e Fuels*, 26(5), 3034–3041. <https://doi.org/10.1021/ef300319f>
- Miao, C., Yang, L., Wang, Z., Luo, W., Li, H., Lv, P. Yuan, Z. (2018). Lipase immobilization on amino-silane modified superparamagnetic Fe₃O₄ nanoparticles as biocatalyst for biodiesel production. *Fuel*, 224, 774–782. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2018.02.149>
- Moreira, A. B. R., Perez, V. H., Zanin, G. M. de Castro, H. F. (2007). Biodiesel Synthesis by Enzymatic Transesterification of Palm Oil with Ethanol Using Lipases from Several Sources Immobilized on Silica–PVA Composite. *Energy e Fuels*, 21(6), 3689–3694. <https://doi.org/10.1021/ef700399b>
- Mukhtar, A., Saqib, S., Lin, H., Hassan Shah, M. U., Ullah, S., Younas, M., Rezakazemi, M., Ibrahim, M., Mahmood, A., Asif, S. Bokhari, A. (2022). Current status and challenges in the heterogeneous catalysis for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 157, 112012. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.112012>
- Mumtaz, M. W., Adnan, A., Mukhtar, H., Rashid, U. Danish, M. (2017). Biodiesel Production Through Chemical and Biochemical Transesterification. Em *Clean Energy for Sustainable Development* (p. 465–485). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805423-9.00015-6>
- Musa, I. A. (2016). The effects of alcohol to oil molar ratios and the type of alcohol on biodiesel production using transesterification process. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.06.007>
- Narwal, S. K. Gupta, R. (2013). Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. *Biotechnology Letters*, 35(4), 479–490. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1116-z>
- Nelson, L. A., Foglia, T. A. Marmer, W. N. (1996). Lipase-catalyzed production of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(9), 1191–1195. <https://doi.org/10.1007/BF02523383>

- Nie, K., Xie, F., Wang, F. Tan, T. (2006). Lipase catalyzed methanolysis to produce biodiesel: Optimization of the biodiesel production. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 43(1–4), 142–147. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2006.07.016>
- Nisar, S., Hanif, M. A., Rashid, U., Hanif, A., Akhtar, M. N. Ngamcharussrivichai, C. (2021). Trends in Widely Used Catalysts for Fatty Acid Methyl Esters (FAME) Production: A Review. *Catalysts*, 11(9), 1085. <https://doi.org/10.3390/catal11091085>
- Otera, Junzo. (1993). Transesterification. *Chemical Reviews*, 93(4), 1449–1470. <https://doi.org/10.1021/cr00020a004>
- Parmar, V. S., Prasad, A. K., Sharma, N. K., Bisht, K. S., Sinha, R. Taneja, P. (1992). Potential applications of enzyme-mediated transesterifications in the synthesis of bioactive compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 64(8), 1135–1139. <https://doi.org/10.1351/pac199264081135>
- Pedro, K., Parreira, J., Correia, I., Henriques, C. Langone, M. (2017). ENZYMATIC BIODIESEL SYNTHESIS FROM ACID OIL USING A LIPASE MIXTURE. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170180>
- Quader, M. A. Ahmed, S. (2017). Bioenergy With Carbon Capture and Storage (BECCS). Em *Clean Energy for Sustainable Development* (p. 91–140). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805423-9.00004-1>
- Rafiei, S., Tangestaninejad, S., Horcajada, P., Moghadam, M., Mirkhani, V., Mohammadpoor-Baltork, I., Kardanpour, R. Zadehahmadi, F. (2018). Efficient biodiesel production using a lipase@ZIF-67 nanobioreactor. *Chemical Engineering Journal*, 334, 1233–1241. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.10.094>
- Rao, Gullapalli. B. D., Anjaneyulu, B., Kaushik, Mahabir. P. Prasad, Mailavaram. R. (2021). β -Ketoesters: An Overview and It's Applications via Transesterification. *ChemistrySelect*, 6(40), 11060–11075. <https://doi.org/10.1002/slct.202102949>
- Rezende, M., de Lima, A. L., Silva, B., Mota, C., Torres, E., da Rocha, G., Cardozo, I., Costa, K., Guarieiro, L., Pereira, P., Martinez, S. de Andrade, J. (2021). Biodiesel: An Overview II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210046>
- Ribeiro, B. D., Castro, A. M. de, Coelho, M. A. Z. Freire, D. M. G. (2011). Production and Use of Lipases in Bioenergy: A Review from the Feedstocks to Biodiesel Production. *Enzyme Research*, 2011, 1–16. <https://doi.org/10.4061/2011/615803>

- Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Mofijur, M., Silitonga, A. S., Rahman, S. M. A. Ahmad, A. (2020). State of the Art of Catalysts for Biodiesel Production. *Frontiers in Energy Research*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00101>
- Santos, S., Puna, J. Gomes, J. (2020). A Review on Bio-Based Catalysts (Immobilized Enzymes) Used for Biodiesel Production. *Energies*, 13(11), 3013. <https://doi.org/10.3390/en13113013>
- Shah, S., Sharma, S. Gupta, M. N. (2004). Biodiesel Preparation by Lipase-Catalyzed Transesterification of *Jatropha* Oil. *Energy e Fuels*, 18(1), 154–159. <https://doi.org/10.1021/ef030075z>
- Szczęśna Antczak, M., Kubiak, A., Antczak, T. Bielecki, S. (2009). Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. *Renewable Energy*, 34(5), 1185–1194. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.11.013>
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., Muniyandi, B., Ranganathan, S. Lin, L. (2019). Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy*, 3(1), 2–23. <https://doi.org/10.1093/ce/zky020>
- Wang, L., Liu, X., Jiang, Y., Zhou, L., Ma, L., He, Y. Gao, J. (2018). Biocatalytic Pickering Emulsions Stabilized by Lipase-Immobilized Carbon Nanotubes for Biodiesel Production. *Catalysts*, 8(12), 587. <https://doi.org/10.3390/catal8120587>
- You, Q., Yin, X., Zhao, Y. Zhang, Y. (2013). Biodiesel production from jatropha oil catalyzed by immobilized Burkholderia cepacia lipase on modified attapulgate. *Bioresource Technology*, 148, 202–207. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.08.143>
- Yuzbasheva, E. Yu., Gotovtsev, P. M., Mostova, E. B., Perkovskaya, N. I., Lomonosova, M. A., Butylin, V. V., Sineokii, S. P. Vasilov, R. G. (2014). Biodiesel production via enzymatic catalysis. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(8), 737–749. <https://doi.org/10.1134/S000368381408006>

5 QUÍMICA COMPUTACIONAL: UMA REVISÃO SOBRE MÉTODOS, FUNDAMENTOS E APLICAÇÕES CIENTÍFICAS

Artigo publicado no periódico “Revista Cuadernos de Educación y Desarrollo”

ISSN: 1989-4155

Qualis – A4 (Biotecnologia 2017-2020)

<https://doi.org/10.55905/cuadv17n1-080>

RESUMO

A química computacional emerge como uma área indispensável na ciência moderna, integrando conceitos de química, física, matemática e ciência da computação para estudar e prever estruturas, propriedades e comportamentos moleculares. Este artigo de revisão aborda os principais métodos utilizados na área, classificados em *Ab initio*, teoria do funcional da densidade (DFT), semiempíricos e empíricos, destacando suas características, avanços históricos. Os métodos *Ab initio* e DFT, baseados em princípios da física quântica, fornecem cálculos precisos para sistemas moleculares complexos, embora apresentem alto custo computacional. Já os métodos semiempíricos, ao combinar dados experimentais com teorias simplificadas, oferecem alternativas econômicas para simular respostas e propriedades moleculares. Métodos empíricos, como mecânica molecular (MM) e dinâmica molecular (DM), complementam essa abordagem, permitindo o estudo de sistemas macromoleculares e dinâmicas temporais. Os avanços recentes incluem o desenvolvimento de métodos híbridos, como mecânica quântica/mecânica molecular (QM/MM), que integram diferentes abordagens para lidar com sistemas amplos e complexos. As aplicações da química computacional abrangem desde a catálise química até a biotecnologia e a ciência dos materiais, demonstrando seu impacto em áreas como nanotecnologia. Embora desafios, como os altos custos computacionais e a necessidade de maior precisão, ainda persistem, os avanços em hardware e algoritmos sinalizando um futuro promissor. Este artigo reafirma a relevância da química computacional como uma ferramenta estratégica para o progresso científico.

Palavras-chave: simulação molecular, métodos semiempíricos, dinâmica molecular, mecânica quântica, mecânica molecular.

ABSTRACT

Computational chemistry is emerging as an indispensable area in modern science, integrating concepts from chemistry, physics, mathematics and computer science to study and predict

molecular structures, properties and behavior. This review article discusses the main methods used in the area, classified as Ab initio, density functional theory (DFT), semiempirical and empirical, highlighting their characteristics and historical advances. Ab initio and DFT methods, based on quantum physics principles, provide accurate calculations for complex molecular systems, although they have a high computational cost. Semi-empirical methods, by combining experimental data with simplified theories, offer economical alternatives for simulating molecular responses and properties. Empirical methods, such as molecular mechanics (MM) and molecular dynamics (DM), complement this approach, allowing the study of macromolecular systems and temporal dynamics. Recent advances include the development of hybrid methods such as quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM), which integrate different approaches to deal with large and complex systems. The applications of computational chemistry range from chemical catalysis to biotechnology and materials science, demonstrating its impact in areas such as nanotechnology. Although challenges such as high computational costs and the need for greater precision still persist, advances in hardware and algorithms signal a promising future. This article reaffirms the relevance of computational chemistry as a strategic tool for scientific progress.

Keywords: molecular simulation, semiempirical methods, molecular dynamics, quantum mechanics, molecular mechanics.

RESUMEN

La química computacional está emergiendo como un área indispensable en la ciencia moderna, integrando conceptos de la química, la física, las matemáticas y la informática para estudiar y predecir estructuras, propiedades y comportamientos moleculares. Este artículo de revisión analiza los principales métodos utilizados en este ámbito, clasificados como Ab initio, teoría funcional de la densidad (DFT), semiempíricos y empíricos, destacando sus características y avances históricos. Los métodos Ab initio y DFT, basados en principios de física cuántica, proporcionan cálculos precisos para sistemas moleculares complejos, aunque tienen un elevado coste computacional. Los métodos semiempíricos, al combinar datos experimentales con teorías simplificadas, ofrecen alternativas económicas para simular respuestas y propiedades moleculares. Los métodos empíricos, como la mecánica molecular (MM) y la dinámica molecular (DM), complementan este enfoque, permitiendo el estudio de sistemas macromoleculares y la dinámica temporal. Los avances recientes incluyen el desarrollo de métodos híbridos, como la mecánica cuántica/mecánica molecular (QM/MM), que integran

distintos enfoques para tratar sistemas grandes y complejos. Las aplicaciones de la química computacional abarcan desde la catálisis química hasta la biotecnología y la ciencia de materiales, demostrando su impacto en ámbitos como la nanotecnología. Aunque persisten retos como los elevados costes computacionales y la necesidad de mayor precisión, los avances en hardware y algoritmos auguran un futuro prometedor. Este artículo reafirma la relevancia de la química computacional como herramienta estratégica para el progreso científico.

Palabras clave: simulación molecular, métodos semiempíricos, dinámica

INTRODUÇÃO

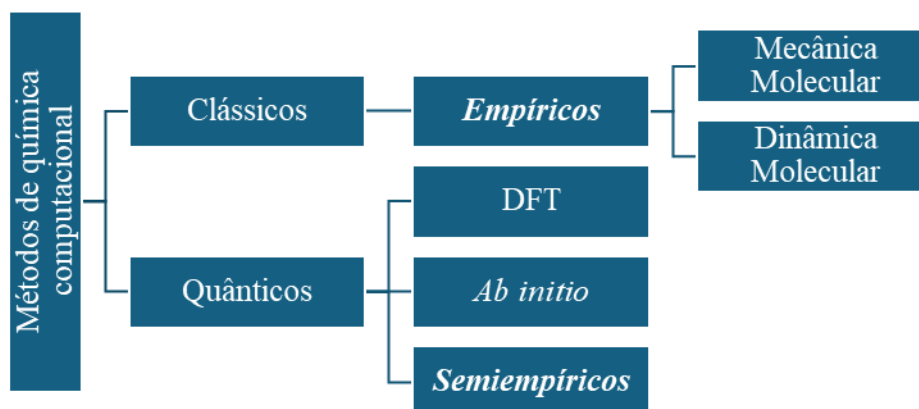
Um mundo cada vez mais tecnológico tem permitido o desenvolvimento de diversos segmentos, trazendo resultados que até pouco tempo atrás seriam impensáveis. Nesse sentido, a utilização de computadores cada vez mais avançados, tem corroborado para que estudos em diferentes áreas sejam realizados de forma mais eficaz, garantindo resultados satisfatórios sem a necessidade de um estudo experimental (Berthier e Reichman, 2023; Zhu *et al.*, 2023).

O desenvolvimento de computadores com maior capacidade de processamento, permitiu a criação e a utilização de ferramentas computacionais que visam lucidar problemas químicos, bioquímicos, tecnológicos, industriais etc., permitindo que a química computacional se tornasse uma das ferramentas essenciais do desenvolvimento científico (Lions e Ciarlet, 1990; Rodrigues e Caridade, 2022; Sadybekov e Katritch, 2023).

A química computacional combina conceitos da química, física, matemática e da ciência da computação com o objetivo de estudar e prever estruturas, propriedades e comportamentos de sistemas moleculares através de métodos e técnicas computacionais que simulam e analisam sistemas químicos que muitas vezes são difíceis ou impossíveis de estudar experimentalmente (Goh, Hodos e Vishnu, 2017a; b).

Apesar de diferentes métodos em química computacional serem utilizados, podemos agrupá-los em dois grandes métodos: os clássicos e os quânticos e subdividi-los em três: Ab initio/teoria do funcional da densidade (DFT - Density Functional Theory), semiempíricos e empíricos. A **Figura 5.1** apresenta a divisão dos principais métodos utilizados química computacional.

Figura 5.1 - Classificação dos métodos de química computacional.



Fonte: Cramer (2004); Lewars (2011).

MÉTODOS AB INITIO E DFT

O método Ab initio e DFT utilizam a física quântica através, da equação de Schroedinger, tanto para obter a função de onda (Ab initio) quanto densidade eletrônica (DFT) de forma a descrever o átomo com maior complexidade, pois há uma visualização dos seus orbitais. Ambos os métodos não são parametrizados, isso quer dizer que não existem parâmetros experimentais que auxiliarão na obtenção de resultados, apesar que o DFT híbrido possui valores que ajustam os cálculos, mas não experimentais. Essa ausência de parâmetros faz com que o método tenha um alto o custo computacional, mas também o faz vantajoso já que não depende de dados experimentais. Dentre os métodos ab initio e DFT destacam-se: HF/3-21G, B3LYP/6-31G (Srinivasan *et al.*, 2020; Stewart, 2004; Thiel, 2014).

O pesquisador Douglas Hartree e posteriormente John Slater e Vladimir Fock, foram um dos pioneiros a utilizarem o método ab initio em química computacional. Hartree (1928) iniciou os trabalhos com o método conhecido como campo autoconsistente que era utilizado para calcular as funções de ondas e energias aproximadas dos átomos e íons. No entanto Hartree não considerou o caráter antissimétrico dos elétrons não prevendo, desse modo, as energias de ligações químicas (Hartree, 1928). Somente com os estudos realizados por Slater e Fock é que tal fatos foram considerados, o que levou a um novo método, conhecido como método de Hartree-Fock (HF) (Fock, 1930; Hartree e Hartree, 1935; Slater, 1930).

Apesar do método ab initio ter iniciado nos anos 1920 e 1930 com os trabalhos citados acima, foi a partir de 1951 com Roothaan que o método se tornou mais amplamente utilizado na química computacional. Roothaan, 1951, através de uma abordagem teórica, calculou estruturas eletrônicas de moléculas, o que desencadeou em equações que foram utilizadas na

determinação da função de onda eletrônica e da energia de uma molécula dentro da aproximação de HF. Essa abordagem serviu como base para o que conhecemos hoje como DFT, proposta por Hohenberg e Kohn (1964) que é aplicada no cálculo de diversas propriedades, incluindo geometrias moleculares, energias eletrônicas, frequências vibracionais, espectros eletrônicos e mecanismos de reação (Hohenberg e Kohn, 1964; Roothaan, 1951).

Desde então, diversos trabalhos têm utilizado métodos *ab initio* e DFT na química computacional contribuindo significativamente para o desenvolvimento de suas aplicações, culminando inclusive na concessão do Prêmio Nobel de Química em 1998 a John Pople e Walter Kohn por terem desenvolvido métodos computacionais em química quântica e a teoria do funcional da densidade respectivamente (Freitas, 1999).

Trabalhos mais atuais utilizando *Ab initio* e DFT se expandiram para além do interesse químico propriamente dito. Ching *et al.* (2024) estudaram a mutação e o efeito da proteína spike do SARS-CoV-2 de forma a entender como os anticorpos neutralizantes interagem com o vírus. Os cálculos realizados para calcular a estrutura eletrônica e as propriedades da proteína em um dos sistemas biomoleculares mais complexo é provavelmente o maior cálculo químico quântico baseado em DFT já realizado (Ching *et al.*, 2021).

Ainda na área da saúde Singh *et al.* (2024) realizaram uma modelagem baseada em *ab initio* da proteína IRS1 humana de forma a identificar alvos potenciais para acoplamento com medicamentos que mitigam o diabetes mellitus tipo 2 (DM2). Os estudos mostraram que quando o medicamento estudado é combinado com a molécula receptora IRS1, houve uma melhora nas chances de retransmitir a cascata de sinalização da insulina tornando o IRS1 uma molécula alvo melhor para o tratamento da doença do DM2 (Singh, Chaurasiya e Kumar, 2024).

De uma forma geral, a introdução de métodos *ab initio* e DFT na química computacional representou um grande avanço para a execução de cálculos precisos de estruturas eletrônicas e na obtenção de insights sobre o comportamento de moléculas e processos químicos.

MÉTODOS SEMIEMPÍRICOS

O método semiempírico, também é baseado na resolução da equação de Schroedinger, descrevendo o átomo como uma região central e sua camada de valência, permitindo que cálculos relacionados as ligações químicas, interações, íons entre outros sejam realizados, seu método parametrizado permite que parâmetros experimentais sejam inseridos fazendo com que se tenha um baixo custo computacional.

Dentre os métodos semiempíricos tem-se: AM1, PM3, PM6, PM7, INDO/S, MNDO,

RM1(nacional) etc, escolhidos com base no problema específico estudado e nos recursos computacionais disponíveis. Independente de qual método semiempírico utilizado, diversos trabalhos têm-se sido desenvolvidos para estudar os diferentes aspectos das propriedades moleculares e materiais (Dewar *et al.*, 1985; Dewar e Thiel, 1977; Rocha *et al.*, 2006; Stewart, 1989a; b, 2004, 2007, 2013).

James J.P. Stewart, destaca-se as por realizar diversas otimizações de parâmetros realizadas que tiveram um impacto significativo no desenvolvimento e na aplicação dos métodos AM1, PM3, PM6, PM7 utilizado na modelagem molecular e em simulações. Stewart também foi responsável por desenvolver o pacote de software Molecular Orbital PACkage (MOPAC) amplamente utilizado na química computacional (Stewart, 1989b; a, 2004, 2007, 2013).

Blyholde *et al.* (1982) utilizaram pela primeira vez o método MINDO para obter informações úteis sobre energia e a geometria de ligação para compostos de metais de transição. O método se mostrou bastante promissor para FeH, FeH₄, Fe₂, Fe₆, Fe(CO)₅, FeO, O-Fe-O e FeO₂ (Blyholder, Head e Ruetter, 1982).

Wu *et al.* (2014) realizaram uma comparação na precisão dos métodos PM3, PDDG e PM6 para calcular os calores de formação em fase gasosa de 390 compostos orgânicos agrupados em 18 grupos. Os autores comparam os valores calculados com os valores experimentais correspondentes chegando à conclusão de que de maneira geral, o método PM6 apresenta melhor aproximação dos valores, pois foi mais preciso para 10 tipos de orgânicos selecionados, o PDDG é mais preciso para 7 tipos, enquanto PM3 é bom para apenas um dos 18 grupos (Wu, Feng-Qi Zhao e Xue-Hai Ju, 2014).

Utilizando também o PM3, Adnan *et al.* (2014), realizaram um estudo da reação de alquilação do resorcinol com glicerol, catalisada por Al₂(SiO₃)₃. Dos quatro estados de transição avaliados dois indicaram serem mais prováveis em virtude dos seus valores energéticos de energia total, energia de ligação, calor de formação, energia do ponto zero e frequência imaginária. Dessa forma, o estudo realizado como método semiempírico PM3 se mostrou útil na comprovação da reação de alquilação do resorcinol sendo possível sua utilização antes da síntese ser realizada em laboratório (Adnan, Aowda e Drea, 2014).

Em trabalho mais recente, Setianto *et al.* (2023) com o objetivo de obter informações para uma análise de carbono 2D como os pontos quânticos de grafeno (GQD-graphene quantum dots), um nanomaterial utilizado em aplicações biológicas, optoeletrônicas, energéticas e ambientais realizaram simulações pelo método semiempírico ZINDO para calcular os espectros

infravermelhos (IV) de moléculas semelhantes ao pireno, pois a identificação de grupos funcionais nas bordas e no centro da superfície de materiais 2D não é fácil, já que espectros de IV geralmente assumem que os materiais são 3D. O modelo proposto de análise espectral de IV usando métodos semiempíricos identificou com sucesso a presença de bandas correspondentes à funcionalização de borda e centro do GQD tipo pireno e podendo ser aplicado a materiais de carbono 2D, como o grafeno e seus derivados (Setianto *et al.*, 2023)

Esses trabalhos destacam as diversas aplicações de métodos semiempíricos em química computacional, que vão desde a previsão de estruturas moleculares até o estudo de mecanismos de reação, propriedades eletrônicas e nanotecnologia.

MÉTODOS EMPÍRICOS

Quando a resolução da equação de Schrödinger se torna difícil ou impraticável para determinado sistema, sobretudo para moléculas grandes ou complexas em que o método semiempírico não pode ser utilizado de forma eficaz, ainda é possível a modelagem do comportamento desses sistemas através de métodos empíricos que utiliza parâmetros derivados de dados experimentais, como comprimentos de ligação, ângulos de ligação, ângulos de torção, forças de Van der Waals, interações eletrostáticas além das relações empíricas. Descrevendo os átomos como esfera e as ligações como molas, os métodos empíricos, são frequentemente menos exigentes em termos computacionais o que poderá sacrificar a precisão em comparação com os outros métodos. (Yang, Sun e Deng, 2020)

Os métodos empíricos são divididos em Mecânica Molecular (MM) e Dinâmica Molecular (DM) que se diferenciam principalmente nas interações entre os átomos. Enquanto na MM as interações entre átomos são normalmente descritas usando campos de força empíricos, que consistem em parâmetros derivados de dados experimentais e cálculos de mecânica clássica, na MD as interações do movimento é realizada de acordo com as leis de movimento de Newton (Allinger, Zhou e Bergsma, 1994; Gelpi *et al.*, 2015; Namba, Silva e Silva, 2008).

De modo geral a MM é um método mais simples que se concentra em estruturas e energias moleculares estáticas, ou seja, a energia potencial está associada a uma configuração fixa, enquanto a DM é um método mais complexo que incorpora o movimento molecular dinâmico e é frequentemente usado para simular o comportamento molecular ao longo do tempo e por isso possui um maior custo computacional (Allinger, Zhou e Bergsma, 1994; Gelpi *et al.*, 2015; Marques e Brown, 2002; Namba, Silva e Silva, 2008; Vanommeslaeghe, Guvench

e MacKerell, 2014).

Em estudos de DM, Alexandre *et al.* (2022) avaliaram a estabilidade do complexo enzima-substrato na reação de transesterificação enzimática do óleo de babaçu (*Orbignya sp.*) com metanol. A DM identificou que os complexos formados aceleravam a alta estabilidade durante as etapas de produção e equivalência dos ésteres metílicos. Destaca-se que houve diferenças entre os resultados teóricos e experimental, mas que segundo os autores, pode ser explicada pela influência de fatores externos ao sistema (Alexandre *et al.*, 2022)

Khan (2023) em uma revisão sobre as aplicações DM em materiais verificou que o método tem se mostrado útil em diferentes áreas da engenharia de matérias, como na nanoengenharia de construção, na correção de imperfeições superficiais de natureza estrutural do grafeno, no estudo de biomateriais de automontagem, na consolidação e sinterização de materiais nanocristalinos entre outros (Khan, 2023)

Suvarna *et al.* (2023) utilizando MM e DM avaliaram que um derivado de carbazol poderá atuar como composto anticancerígeno em mama e colorretal. Os resultados demonstraram que o derivado de carbazol estava dentro da bolsa de ligação da proteína CDK1 (alvo primário para o câncer) fazendo com que as vias de sinalizações possam ser inibidas e/ou interrompidas pelo composto. Apesar dos bons resultados computacionais, há necessidade de estudos *in vitro* para ratificar a validação da pesquisa (Suvarna *et al.*, 2024)

O trabalho realizado por Suvarna *et al.* (2023) apresenta estratégias mais amplamente utilizadas por pesquisadores, que é a aplicação de técnicas conjuntas que buscam contornar limitações encontradas quando se emprega um único método. Tal estratégia é denominada de métodos híbridos e o mais amplamente utilizado, combina cálculos de mecânica quântica (QM) e de mecânica molecular (MM), conhecido como método QM/MM (Kamp, van der e Mulholland, 2013a; Magalhães, Fernandes e Sousa, 2020; Mondal *et al.*, 2023).

O método QM/MM estuda o sistema de forma separada em que uma parte do sistema é tratada mecanicamente quântica enquanto a outra parte é descrita usando mecânica molecular, podendo inclusive combinar com semiempíricos, *ab initio*, DFT entre outros. Esta abordagem é útil para estudar reações enzimáticas, efeitos de solventes e ambientes moleculares complexos (Kamp, van der e Mulholland, 2013b; Quesne, Borowski e de Visser, 2016; Santos, Dos *et al.*, 2022; Sousa *et al.*, 2017; Tu e Laaksonen, 2010; Vreven *et al.*, 2003; Vreven e Morokuma, 2006; Zhang *et al.*, 2010).

Ferreira *et al.* (2017) realizaram mutações pontuais do sítio ativo da enzima *Rhodococcus erythropolis* para aumentar seu poder catalítico na dessulfurização do petróleo

bruto, em que diferentes perfis de energia livre foram calculados, um para cada modelo mutado, aplicamos métodos QM/MM. Os resultados teóricos confirmaram que as mutações realizadas possuem potencial aumentar o poder catalítico da enzima estudada (Ferreira *et al.*, 2017).

Sousa Junior *et al.* (2023) em um estudo teórico e experimental da reação de esterificação de glicerol catalisada por lipase, verificaram através de docking molecular, dinâmica molecular e simulações QM/MM que a etapa de ataque nucleofílico é a etapa limitante da taxa para os mecanismos de reação de acilação e desacilação e que embora a enzima possa esterificar todos os três grupos hidroxila do glicerol, nos álcoois primários a esterificação é termodinamicamente mais favorável, principalmente em temperaturas mais elevadas o que foi corroborado com os resultados experimentais (Sousa Junior, de *et al.*, 2023).

Os trabalhos citados nestes tópicos, trazem uma pequena variedade de pesquisas relacionadas a química computacional, incluindo seus fundamentos teóricos e aplicações em diferentes estudos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A química computacional tem se consolidado como uma ferramenta indispensável no avanço do conhecimento científico, oferecendo meios robustos para explorar sistemas moleculares complexos e processos químicos com precisão e profundidade. A integração de métodos clássicos e quânticos, incluindo *Ab initio*, DFT, métodos semiempíricos e empíricos, fornece uma abordagem versátil que abrange desde estudos teóricos fundamentais até aplicações práticas em áreas como catálise, nanotecnologia, bioquímica e ciência dos materiais.

Este artigo revisou os principais métodos da química computacional, destacando suas características, avanços históricos e aplicações contemporâneas. Métodos como *Ab initio* e DFT têm sido cruciais para cálculos precisos de propriedades eletrônicas, enquanto os métodos semiempíricos e empíricos, mais econômicos em termos de recursos computacionais, demonstram grande aplicabilidade em estudos de reatividade e propriedades moleculares. A evolução de abordagens híbridas, como QM/MM, evidencia o esforço contínuo para superar limitações metodológicas e explorar sistemas mais amplos e complexos.

Embora as contribuições da química computacional sejam notáveis, ainda há desafios a serem enfrentados, especialmente na aplicação de sistemas biológicos, reações catalíticas e nanomateriais, onde a precisão dos métodos e os custos computacionais permanecem questões críticas. Além disso, o desenvolvimento de algoritmos mais eficientes, aliado ao crescimento exponencial da capacidade computacional, sinalizando um futuro promissor, ampliando as

possibilidades de aplicação da química computacional em novos campos.

Portanto, este panorama destaca a relevância da química computacional no cenário científico atual, reforçando sua posição como uma ciência transversal e fundamental para a compreensão de ciências moleculares e a proposição de soluções inovadoras para problemas complexos da ciência e tecnologia.

REFERÊNCIAS

- Adnan, H., Aowda, S. Drea, A. (2014). Simulation Study of alkylation reaction of resorcinol. *Journal of Applicable chemistry*, 3, 2365–2371.
- Alexandre, J. Y. N. H., Cavalcante, F. T. T., Freitas, L. M., Castro, A. P., Borges, P. T., de Sousa Junior, P. G., Filho, M. N. R., Lopes, A. A. S., da Fonseca, A. M., Lomonaco, D., de Sousa Rios, M. A. Sousa dos Santos, J. C. (2022). A Theoretical and Experimental Study for Enzymatic Biodiesel Production from Babassu Oil (*Orbignya* sp.) Using Eversa Lipase. *Catalysts*, 12(11), 1322. <https://doi.org/10.3390/catal12111322>
- Allinger, N. L., Zhou, X. Bergsma, J. (1994). Molecular mechanics parameters. *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 312(1), 69–83. [https://doi.org/10.1016/S0166-1280\(09\)80008-0](https://doi.org/10.1016/S0166-1280(09)80008-0)
- Berthier, L. Reichman, D. R. (2023). Modern computational studies of the glass transition. *Nature Reviews Physics*, 5(2), 102–116. <https://doi.org/10.1038/s42254-022-00548-x>
- Blyholder, G., Head, J. Ruette, F. (1982). Semi-empirical calculation method for transition metals. *Theoretica Chimica Acta*, 60(5), 429–444. <https://doi.org/10.1007/BF00548696>
- Ching, W.-Y., Adhikari, P., Jawad, B. Podgornik, R. (2021). Ultra-large-scale ab initio quantum chemical computation of bio-molecular systems: The case of spike protein of SARS-CoV-2 virus. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 19, 1288–1301. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2021.02.004>
- de Sousa Junior, P. G., do Nascimento Camara, A. G., Oliveira, A. R. T., de Castro Lima, G., Lima, G. V., Coutinho, L. P., Nunes Holanda Alexandre, J. Y., Serafim, L. F., de Mattos, M. C., de Kássio Monteiro, N. V. Sousa dos Santos, J. C. (2023). Optimization and theoretical analysis of lipase-catalyzed enzymatic esterification of glycerol for efficient glycerides synthesis. *Biochemical Engineering Journal*, 198, 109033. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2023.109033>

- Dewar, M. J. S. Thiel, W. (1977). Ground states of molecules. 38. The MNDO method. Approximations and parameters. *Journal of the American Chemical Society*, 99(15), 4899–4907. <https://doi.org/10.1021/ja00457a004>
- Dewar, M. J. S., Zoebisch, E. G., Healy, E. F. Stewart, J. J. P. (1985). Development and use of quantum mechanical molecular models. 76. AM1: a new general purpose quantum mechanical molecular model. *Journal of the American Chemical Society*, 107(13), 3902–3909. <https://doi.org/10.1021/ja00299a024>
- Dos Santos, A. M., Oliveira, A. R. S., da Costa, C. H. S., Kenny, P. W., Montanari, C. A., Varela, J. de J. G. Lameira, J. (2022). Assessment of Reversibility for Covalent Cysteine Protease Inhibitors Using Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Free Energy Surfaces. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 62(17), 4083–4094. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.2c00466>
- Ferreira, P., Sousa, S. F., Fernandes, P. A. Ramos, M. J. (2017). Improving the Catalytic Power of the DszD Enzyme for the Biodesulfurization of Crude Oil and Derivatives. *Chemistry – A European Journal*, 23(68), 17231–17241. <https://doi.org/10.1002/chem.201704057>
- Fock, V. (1930). Näherungsmethode zur Lösung des quantenmechanischen Mehrkörperproblems. *Zeitschrift für Physik*, 61(1–2), 126–148. <https://doi.org/10.1007/BF01340294>
- Freitas, L. C. G. (1999). Prêmio Nobel de Química em 1998: Walter Kohn e John A. Pople. *Química Nova*, 22(2), 293–298. <https://doi.org/10.1590/S0100-40421999000200024>
- Gelpi, J., Hospital, A., Goñi, R. Orozco, M. (2015). Molecular dynamics simulations: advances and applications. *Advances and Applications in Bioinformatics and Chemistry*, 37. <https://doi.org/10.2147/AABC.S70333>
- Goh, G. B., Hodas, N. O. Vishnu, A. (2017a). Deep learning for computational chemistry. *Journal of Computational Chemistry*, 38(16), 1291–1307. <https://doi.org/10.1002/jcc.24764>
- Goh, G. B., Hodas, N. O. Vishnu, A. (2017b). Deep learning for computational chemistry. *Journal of Computational Chemistry*, 38(16), 1291–1307. <https://doi.org/10.1002/jcc.24764>
- Hartree, D. R. (1928). The Wave Mechanics of an Atom with a Non-Coulomb Central Field. Part II. Some Results and Discussion. *Mathematical Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 24(1), 111–132. <https://doi.org/10.1017/S0305004100011920>

- Hartree, D. R. Hartree, W. (1935). Self-consistent field, with exchange, for beryllium. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A - Mathematical and Physical Sciences*, 150(869), 9–33. <https://doi.org/10.1098/rspa.1935.0085>
- Hohenberg, P. Kohn, W. (1964). Inhomogeneous Electron Gas. *Physical Review*, 136(3B), B864–B871. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.136.B864>
- Khan, R. (2023). Molecular Dynamics (MD) Applications in Materials Science and Engineering and Nanotechnology. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*, 11(11), 1–6. <https://doi.org/10.4236/msce.2023.1111001>
- Lions, J.-L. Ciarlet, P. G. (1990). *Computational Chemistry* (Vol. 10). Gulf Professional Publishing.
- Magalhães, R. P., Fernandes, H. S. Sousa, S. F. (2020). Modelling Enzymatic Mechanisms with QM/MM Approaches: Current Status and Future Challenges. *Israel Journal of Chemistry*, 60(7), 655–666. <https://doi.org/10.1002/ijch.202000014>
- Marques, H. M. Brown, K. L. (2002). Molecular mechanics and molecular dynamics simulations of porphyrins, metalloporphyrins, heme proteins and cobalt corrinoids. *Coordination Chemistry Reviews*, 225(1–2), 123–158. [https://doi.org/10.1016/S0010-8545\(01\)00411-8](https://doi.org/10.1016/S0010-8545(01)00411-8)
- Mondal, A., Lenz, S., MacCallum, J. L. Perez, A. (2023). Hybrid computational methods combining experimental information with molecular dynamics. *Current Opinion in Structural Biology*, 81, 102609. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2023.102609>
- Namba, A. M., Silva, V. B. da Silva, C. H. T. P. da. (2008). Dinâmica molecular: teoria e aplicações em planejamento de fármacos. *Eclética Química*, 33(4), 13–24. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702008000400002>
- Quesne, M. G., Borowski, T. de Visser, S. P. (2016). Quantum Mechanics/Molecular Mechanics Modeling of Enzymatic Processes: Caveats and Breakthroughs. *Chemistry – A European Journal*, 22(8), 2562–2581. <https://doi.org/10.1002/chem.201503802>
- Rocha, G. B., Freire, R. O., Simas, A. M. Stewart, J. J. P. (2006). RM1: A reparameterization of AM1 for H, C, N, O, P, S, F, Cl, Br, and I. *Journal of Computational Chemistry*, 27(10), 1101–1111. <https://doi.org/10.1002/jcc.20425>
- Rodrigues, S. P. J. Caridade, P. (2022). História da química computacional e do uso dos computadores em química. *História da Ciência e Ensino: construindo interfaces*, 25, 140–153. <https://doi.org/10.23925/2178-2911.2022v25espp140-153>

- Roothaan, C. C. J. (1951). New Developments in Molecular Orbital Theory. *Reviews of Modern Physics*, 23(2), 69–89. <https://doi.org/10.1103/RevModPhys.23.69>
- Sadybekov, A. V. Katritch, V. (2023). Computational approaches streamlining drug discovery. *Nature*, 616(7958), 673–685. <https://doi.org/10.1038/s41586-023-05905-z>
- Setianto, S., Panatarani, C., Singh, D. Joni, I. M. (2023). Semi-empirical infrared spectra simulation of pyrene-like molecules insight for simple analysis of functionalization graphene quantum dots. *Scientific Reports*, 13(1), 2282. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-29486-z>
- Singh, R. K., Chaurasiya, A. K. Kumar, A. (2024). Ab initio modeling of human IRS1 protein to find novel target to dock with drug MH to mitigate T2DM diabetes by insulin signaling. *3 Biotech*, 14(4), 108. <https://doi.org/10.1007/s13205-024-03955-2>
- Slater, J. C. (1930). Note on Hartree's Method. *Physical Review*, 35(2), 210–211. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.35.210.2>
- Sousa, S. F., Ribeiro, A. J. M., Neves, R. P. P., Brás, N. F., Cerqueira, N. M. F. S. A., Fernandes, P. A. Ramos, M. J. (2017). Application of quantum mechanics/molecular mechanics methods in the study of enzymatic reaction mechanisms. *WIREs Computational Molecular Science*, 7(2). <https://doi.org/10.1002/wcms.1281>
- Srinivasan, G. R., Sharma, Y., Vijayalakshmi, S. Ranjitha, J. (2020). Computational analysis of triglyceride molecule involving in transesterification reaction. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 923(1), 012075. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/923/1/012075>
- Stewart, J. J. P. (1989a). Optimization of parameters for semiempirical methods I. Method. *Journal of Computational Chemistry*, 10(2), 209–220. <https://doi.org/10.1002/jcc.540100208>
- Stewart, J. J. P. (1989b). Optimization of parameters for semiempirical methods II. Applications. *Journal of Computational Chemistry*, 10(2), 221–264. <https://doi.org/10.1002/jcc.540100209>
- Stewart, J. J. P. (2004). Comparison of the accuracy of semiempirical and some DFT methods for predicting heats of formation. *Journal of Molecular Modeling*, 10(1), 6–12. <https://doi.org/10.1007/s00894-003-0157-6>
- Stewart, J. J. P. (2007). Optimization of parameters for semiempirical methods V: Modification of NDDO approximations and application to 70 elements. *Journal of Molecular Modeling*, 13(12), 1173–1213. <https://doi.org/10.1007/s00894-007-0233-4>

- Stewart, J. J. P. (2013). Optimization of parameters for semiempirical methods VI: more modifications to the NDDO approximations and re-optimization of parameters. *Journal of Molecular Modeling*, 19(1), 1–32. <https://doi.org/10.1007/s00894-012-1667-x>
- Suvarna, E., Setlur, A. S., K, C., M, S. Niranjana, V. (2024). Computational molecular perspectives on novel carbazole derivative as an anti-cancer molecule against CDK1 of breast and colorectal cancers via gene expression studies, novel two-way docking strategies, molecular mechanics and dynamics. *Computational Biology and Chemistry*, 108, 107979. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2023.107979>
- Thiel, W. (2014). Semiempirical quantum–chemical methods. *WIREs Computational Molecular Science*, 4(2), 145–157. <https://doi.org/10.1002/wcms.1161>
- Tu, Y. Laaksonen, A. (2010). *Implementing Quantum Mechanics into Molecular Mechanics—Combined QM/MM Modeling Methods* (p. 1–15). [https://doi.org/10.1016/S0065-3276\(10\)59001-4](https://doi.org/10.1016/S0065-3276(10)59001-4)
- van der Kamp, M. W. Mulholland, A. J. (2013a). Combined Quantum Mechanics/Molecular Mechanics (QM/MM) Methods in Computational Enzymology. *Biochemistry*, 52(16), 2708–2728. <https://doi.org/10.1021/bi400215w>
- van der Kamp, M. W. Mulholland, A. J. (2013b). Combined Quantum Mechanics/Molecular Mechanics (QM/MM) Methods in Computational Enzymology. *Biochemistry*, 52(16), 2708–2728. <https://doi.org/10.1021/bi400215w>
- Vanommeslaeghe, K., Guvench, O. MacKerell, A. D. (2014). Molecular Mechanics. *Current Pharmaceutical Design*, 20(20), 3281–3292. <https://doi.org/10.2174/13816128113199990600>
- Vreven, T. Morokuma, K. (2006). *Chapter 3 Hybrid Methods: ONIOM(QM:MM) and QM/MM* (p. 35–51). [https://doi.org/10.1016/S1574-1400\(06\)02003-2](https://doi.org/10.1016/S1574-1400(06)02003-2)
- Vreven, T., Morokuma, K., Farkas, Ö., Schlegel, H. B. Frisch, M. J. (2003). Geometry optimization with QM/MM, ONIOM, and other combined methods. I. Microiterations and constraints. *Journal of Computational Chemistry*, 24(6), 760–769. <https://doi.org/10.1002/jcc.10156>
- Wu, Y.-Y., Feng-Qi Zhao Xue-Hai Ju. (2014). A Comparison of the Accuracy of Semi-empirical PM3, PDDG and PM6 methods in Predicting Heats of Formation for Organic Compounds. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 58.
- Yang, L., Sun, L. Deng, W.-Q. (2020). van der Waals Function for Molecular Mechanics. *The Journal of Physical Chemistry A*, 124(10), 2102–2107. <https://doi.org/10.1021/acs.jpca.9b11222>

Zhang, R., Lev, B., Cuervo, J. E., Noskov, S. Y. Salahub, D. R. (2010). *A Guide to QM/MM Methodology and Applications* (p. 353–400). [https://doi.org/10.1016/S0065-3276\(10\)59010-5](https://doi.org/10.1016/S0065-3276(10)59010-5)

Zhu, S., Yu, T., Xu, T., Chen, H., Dustdar, S., Gigan, S., Gunduz, D., Hossain, E., Jin, Y., Lin, F., Liu, B., Wan, Z., Zhang, J., Zhao, Z., Zhu, W., Chen, Z., Durrani, T. S., Wang, H., Wu, J., ... Pan, Y. (2023). Intelligent Computing: The Latest Advances, Challenges, and Future. *Intelligent Computing*, 2. <https://doi.org/10.34133/icomputing.0006>

6 ESTUDO TEÓRICO E EXPERIMENTAL DA TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DO ÓLEO DE COCO DE ARIRI COM α -BISABOLOL E ETANOL: UM ESTUDO COMPARATIVO (ARTIGO EM INGLÊS)

Artigo submetido ao periódico “International Journal of Quantum Chemistry”

ISSN: 0020-7608/1097-461X

Qualis – A4 (Biotecnologia 2017-2020)

ABSTRACT

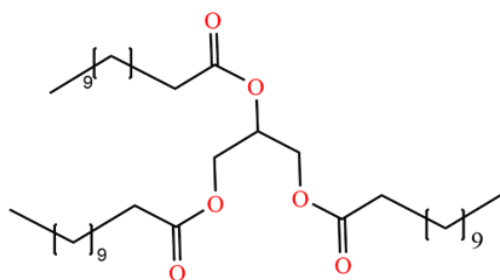
Transesterification is an essential process in bioproduct production, with catalyst choice being critical for reaction efficiency and selectivity. Lipases are effective biocatalysts due to their specificity and mild reaction conditions. This study employed computational chemistry and laboratory experiments to compare the enzymatic transesterification of ariri coconut oil with α -bisabolol and ethanol. Computational analyses using molecular dynamics (MD) and quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) evaluated reaction stability and efficiency. The transesterification reactions carried out in the laboratory were carried out under different conditions using *Burkholderia cepacia* lipase as a biocatalyst. The products were analyzed by thin-layer chromatography (TLC). Computational results indicated that the activation energy ($\Delta G^\ddagger$) for the reaction with α -bisabolol exceeded 20 kcal/mol, while for ethanol, it was 19.2 kcal/mol, suggesting a lower energy barrier for ethanol. Gibbs free energy (ΔG) was over 20 kcal/mol for α -bisabolol and 13 kcal/mol for ethanol, confirming ethanol as more energetically favorable. Laboratory tests showed product formation only in reactions with ethanol, aligning with computational findings. These results demonstrate ethanol's efficiency for enzymatic transesterification of ariri oil. This work contributes to bioproduct innovation by fostering sustainable processes, leveraging local natural resources, and integrating advanced biocatalysis and computational chemistry techniques.

Keywords: Bioactive; Quantum mechanics/Molecular mechanics (QM/MM); *Burkholderia cepacia*; Lauric acid triglyceride; Ariri

INTRODUCTION

Transesterification is a chemical reaction widely used in the production of esters, including biodiesel, obtained mainly from the transesterification of vegetable oils (Farouk *et al.*, 2024; Y. Li *et al.*, 2012). The process is characterized by the exchange of alkoxy groups of an ester with an alcohol, producing a new ester and a new alcohol. This reaction occurs in the presence of a catalyst, which enhances efficiency and reduces reaction time (Otera, 1993). The main catalysts used in transesterification reactions fall into three broad categories: homogeneous, heterogeneous, and enzymatic, each with specific characteristics and advantages (Cordeiro *et al.*, 2011; Pinto *et al.*, 2005; Thangaraj *et al.*, 2019). Homogeneous catalysts are fast and efficient but challenging to separate and reuse, while heterogeneous catalysts facilitate separation and reuse but may require stricter reaction conditions. Enzymatic catalysts or biocatalysts, on the other hand, are environmentally friendly, generate less waste, and offer greater selectivity. Despite their higher cost and longer reaction time, enzymatic transesterification has gained prominence as a sustainable alternative to conventional methods (Fjerbaek *et al.*, 2009; Guldhe *et al.*, 2017).

Lipases classified as C.E 3.1.1.3, specifically triacylglycerol lipases, are the most widely used biocatalysts in transesterification reactions (Bajaj *et al.*, 2010a; Gog *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2014; NC-IUBMB, n.d.). Among these, lipases from *Burkholderia cepacia* stand out due to their high efficiency, stability, and chemical specificity in converting triglycerides into esters (Bajaj *et al.*, 2010b; Jaeger e Eggert, 2002; Nelson *et al.*, 1996; Porto de Souza Vandenberghe *et al.*, 2020; Salihu *et al.*, 2012). Triglycerides, composed of a glycerol molecule esterified with three fatty acids, play a crucial role in determining reaction efficiency and final product properties (Lichtenstein, 2023; Salaheldeen *et al.*, 2021) (MEHER *et al.*, 2006; Szczesna Antczak *et al.*, 2009; Vieira *et al.*, 2017). While unsaturated fatty acid triglycerides tend to be more reactive, triglycerides with high saturated fatty acid content, such as lauric acid triglyceride (C12), are highly valued in enzymatic transesterification due to their ability to produce esters with favorable industrial characteristics (Adriaanse *et al.*, 1965; Dayrit, 2015; Rezende *et al.*, 2021; Schuchardt *et al.*, 1998). Lauric acid triglyceride is particularly abundant in oils from coconut palms, making them a prominent raw material for bioprocess applications. **Figure 6.1** shows the structural formula of lauric acid triglyceride and **Table 6.1** summarizes the fatty acid composition of vegetable oils obtained from coconut palms, commonly used in enzymatic transesterification reactions.

Figure 6.1 - Lauric acid triglyceride (C12)

Source: Authors (2025)

Table 6.1 - Composition of fatty acids in different vegetable oils

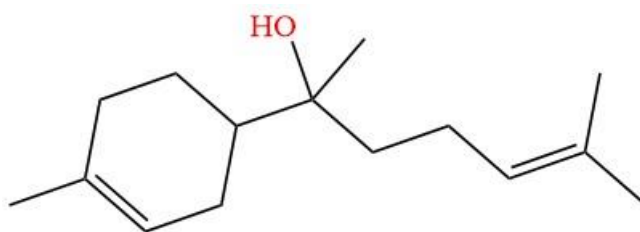
Fatty acid	Vegetable oils			
	Babassu (Sales <i>et al.</i> , 2020)	Ariri (Iha <i>et al.</i> , 2014)	Coconut (Martins <i>et al.</i> , 2020)	Palm kernel (Akhavue e Ogogo, 2018)
C8:0 (Caprylic acid)	3%	13%	-	2%
C10:0 (Capric acid)	3%	8%	7 %	7%
C12:0 (Lauric acid)	46%	48%	47%	50%
C14:0 (Myristic acid)	16%	14%	19%	18%
C16:0 (Palmitic acid)	8%	5%	9%	10%
C18:0 (Stearic Acid)	9%	2%	3%	-
C18:1n9c (Oleic Acid)	11%	7%	7%	13%
Other	4%	3%	8%	-

The search for alternative vegetable oil sources for transesterification reactions has intensified to reduce dependence on traditional oils such as soybean, palm, canola, and jatropha (Brahma *et al.*, 2022; Ramos *et al.*, 2019). Oils extracted from palm trees, such as ariri oil, have emerged as promising options due to their availability and favorable chemical composition, which is rich in fatty acids essential for industrial bioproduct production. Ariri oil, obtained from the *Syagrus cocoides* Martius palm coconut, a species abundant in Maranhão, Brazil, contains high lauric acid content, making it particularly suitable for enzymatic transesterification and a potential replacement for conventional vegetable oils (Farias *et al.*, 2021; Iha *et al.*, 2014; Lisboa *et al.*, 2020; Pires, 2020; WFO, 2024). In transesterification reactions, triglycerides in vegetable oils are converted into esters using alcohols as reagents. Traditionally, short-chain alcohols like methanol and ethanol are preferred due to their high reactivity and availability (Norjannah *et al.*, 2016; Shah *et al.*, 2003). However, long-chain alcohols have garnered attention for their ability to synthesize esters with specific properties

suitable for biofuels and other industrial applications (Gotovuša *et al.*, 2022; Lukovic *et al.*, 2011).

Due to their structural complexity, long-chain alcohols can affect lipase catalytic efficiency and reaction yield (Gotovuša *et al.*, 2022), necessitating the exploration of alternative raw materials to mitigate these effects. In this context, alcohols from the monocyclic sesquiterpene group, possessing oxygenated functional groups that interact with lipases, show potential for enzymatic transesterification, enabling the synthesis of esters with specific bioactive properties (Rücker, 1973). Among these, α -bisabolol stands out due to its application in various products, including anti-inflammatories, aftershave lotions, diaper rash treatments, lip balms, and rejuvenation products (Batistuzzo *et al.*, 2015; Fernandes *et al.*, 2019; Kamatou e Viljoen, 2010). α -Bisabolol is found in essential oils such as chamomile and extracted from the *Eremanthus erythropappus* (candeia) tree, a species native to Brazil's Atlantic Forest and Cerrado (Prudente *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2012; Souza *et al.*, 2020). **Figure 6.2** shows the structural formula of α -bisabolol. Despite its growing industrial and scientific relevance, α -bisabolol has not yet been explored in transesterification reactions, highlighting a knowledge gap in understanding the mechanisms and factors influencing its reaction medium.

Figure 6.2 - α -bisabolol (6-Methyl-2-(4-methyl-3-cyclohexenyl)-5-hepten-2-ol).



Source: Authors (2025)

Computational chemistry has become an indispensable tool for understanding and optimizing enzymatic transesterification reactions. Hybrid methods such as quantum mechanics/molecular mechanics (QM/MM) facilitate detailed molecular-level analyses of substrate and alcohol interactions with enzyme active sites, elucidating how structural properties of alcohols influence the transesterification process (Alexandre *et al.*, 2022; Magalhães *et al.*, 2020; Sabin, 2010; Zhang *et al.*, 2010). Given this, this study aims to investigate the transesterification mechanism of C12 in ariri coconut oil using α -bisabolol as a long-chain alcohol and compare it with traditional ethanol-based transesterification. By analyzing these reactions, this work seeks to provide crucial insights into the feasibility of α -

bisabolol in enzymatic transesterification, contributing to the development of innovative and sustainable bioprocesses that expand the use of renewable resources such as ariri coconut oil and α -bisabolol for industrial biofuel and bioproduct applications.

METHODOLOGY

COMPUTATIONAL CALCULATIONS

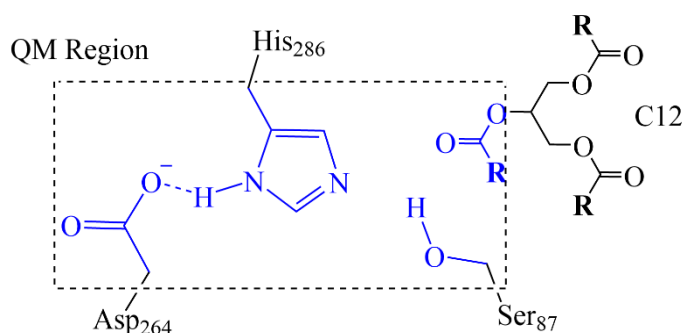
Molecular Dynamics (MD) Simulation

Molecular dynamics simulations were performed for *B. cepacia* (PDB code: 3LIP) six systems were analyzed in the presence of lauric acid triglyceride: C12/ α -bisabolol, C12/ethanol, enzyme/ α -bisabolol, enzyme/ethanol, complex/ α -bisabolol and complex/ethanol using the NAMD package (Phillips *et al.*, 2020) with the CHARMM36m force (Huang *et al.*, 2017) field for proteins and ligands, and the TIP3P water model (Mark e Nilsson, 2001). Cubic simulation boxes of 81.0 Å width were prepared using PACKMOL (Martínez *et al.*, 2009). Excess counter ions were added to make the system electrically neutral. The protonation states of the ionizable residues were defined according to the predictions of the proPKA server (Søndergaard *et al.*, 2011). All systems were simulated under periodic boundary conditions with long-range interactions handled by the particle mesh Ewald method (Darden *et al.*, 1993). Short-range interactions were truncated to a cut-off radius of 12 Å. The chemical bonds involving hydrogen atoms were constrained to their equilibrium lengths, and a time step of 2 fs was used to integrate the equations of motion. The simulations were performed on 200 ns of trajectory data for each system at the corresponding optimal experimental temperature of the enzyme of 323 K. Pressure (1 atm), and temperature was kept constant by the piston and thermostat of Langevin Nosé-Hoover (Feller *et al.*, 1995; Hoover, 1986). Protein-substrate structures were generated via docking using the AUTODOCK_VINA (Trott e Olson, 2010). Before the production runs, the systems were subjected to a 1,000-step energy minimization conjugate gradient implemented in AMBER (Salomon-Ferrer *et al.*, 2013), followed by (1) 10 ps to 278 K equilibrium steps with all atoms fixed; (2) 10 ps at 283 K with all atoms fixed; (3) 5 ps MD run during which only solvent molecules and ions were allowed to move at 300 K; (4) a 100 ps run during which the sidechains were also allowed to move at 323 K and (5) a 500 ps run with the entire system free to move at 323 K. For systems with a substrate attached, steps 3-5 consisted of 20 ps, 100 ps, and 10 ns respectively. PCA and RMSF were calculated using CPPTRAJ (Roe e Cheatham, 2013).

Free Energy Surface (SEL)

To obtain the FES associated with MHET formation, we used the weighted histogram analysis (WHAM) method combined with the umbrella sampling approach (Roux, 1995), as implemented in the pDynamo program (Field, 2008). The calculation of the PMF requires a series of molecular dynamics simulations in which the distinct reaction coordinate variable, ξ , is constrained around particular values (Schenter *et al.*, 2003). In the QM/MM approach, a small part of the system (ligand/substrate species) is described by quantum mechanics, while MM force fields represent the protein and solvent environment (A. M. dos Santos *et al.*, 2017). 2D PMFs were obtained for the MHET formation mechanism. In this study, the PM6 potential (Řezáč *et al.*, 2009) was used to describe the QM region, the atomic coordinates of the atoms involved in the reaction were constrained by a harmonic umbrella potential of $50 \text{ kcal.mol}^{-1}.\text{\AA}^{-2}$. For the QM/MM hybrid calculations, the triglyceride atoms and the side chains of the Ser and His residues were selected to be treated by QM using a semi-empirical Hamiltonian PM6 (Řezáč *et al.*, 2009). The system's other atoms, protein, and water molecules were described using the CHARMM/TIP3P force fields (Huang e MacKerell, 2013), respectively. The number of QM atoms resulted in 55, while the final system contained 47,000 atoms. It is important to note that the QM region (**Figure 6.3**) used in this work includes fewer residuals than in previous computational studies (Boneta *et al.*, 2021; Jerves *et al.*, 2021). Simulation with a small QM region is computationally less demanding, and the size of the QM region may have little influence on single-point QM/MM calculations for studies involving enzymatic catalysis (Jindal e Warshel, 2016; Liao e Thiel, 2013).

Figure 6.3 - Diagram of the quantum region (QM) schematic used in QM/MM simulations.



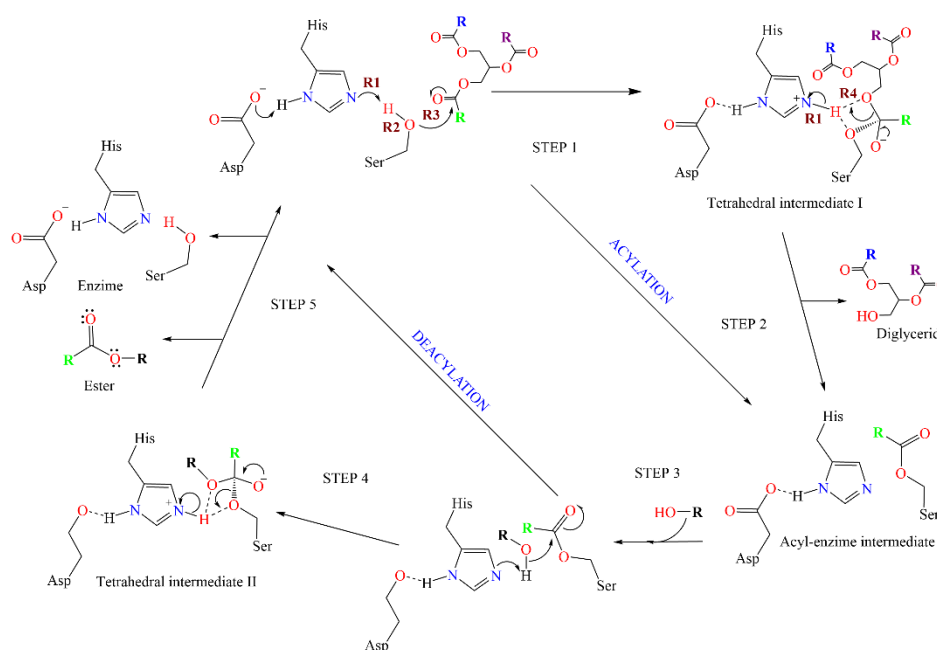
Source: Authors (2025)

Initially, Langevin-Verlet QM/MM at 300 K and in a canonical thermodynamic set (NVT) was used to balance the system. Due to the number of degrees of freedom, any residue 20 Å away from any reactant atoms was selected to be frozen in the remaining calculi. Cut-offs

for the non-binding interactions were applied using a switching scheme within a 14.5 to 16.0 Å radius. Subsequently, the system was balanced using 2.0 ns of MD qm/MM at a temperature of 300 K. The RMSD computed for the protein during the last 1 ns yields a value consistently below 0.9 Å. In addition, the RMS of the temperature along the different equilibrium steps was always less than 2.5 K, and the coefficient of variation of the potential energy during the dynamic simulations was never higher than 0.3%.

A total of 40 simulations were performed at different antisymmetric combination values of distances R1-R2 (ranging from -2.0 Å to 2.0 Å, see **Figure 6.4**), with an umbrella force constant of 50 kcal.mol⁻¹.Å⁻² applied to this distinct reaction coordinate. In addition, 40 simulations were performed at different values of R3 (ranging from 1.0 Å to 3.0 Å, see **Figure 6.4**), also with an umbrella force constant of 50 kcal.mol⁻¹. Å⁻² in this combination of distances. Consequently, 1600 simulation windows were needed to obtain the 2D PMF for Step 1 of the transesterification mechanism. The values of the variables sampled during the simulations were then pooled to construct a complete distribution function from which the 2D PMF was obtained. In each window, 20 ps of relaxation was followed by 20 ps of production with a time step of 0.5 fs due to the nature of the chemical step involving a hydrogen transfer. Verlet's algorithm was used to update the speeds. It is important to note that the coordinates considered in the PMF are described in **Figure 6.4**.

Figure 6.4 - Diagram of the reaction coordinates used to investigate the transesterification reaction mechanism.



Source: Authors (2025)

Since using QM/MM calculations in free energy evaluation are commonly restricted to semi-empirical Hamiltonians due to the large number of gradient vector evaluations; we started our analysis with a semi-empirical potential. So, the error associated with this quantum level of theory was reduced by the inclusion of correction terms. The corrections were applied by subtracting the calculated energy for the QM region using a semi-empirical level and adding the energy of the DFT potential (Zhao e Truhlar, 2008). The QM region was described as the functional M06-2X (Zhao e Truhlar, 2008) with the base set 6-31+G (d, p). These calculations were performed using the ORCA 5.0.3 quantum chemistry software package (Neese, 2022). The same high-level QM fixes were applied previously. The TS-like conformations obtained from the MD AM1/d-PhoT/MM simulations were used as the initial geometries for the energy correction at the DFT level. QM corrections were performed using ORCA and the pDynamo program. The same high-level QM fixes were applied previously (Ruiz-Pernía *et al.*, 2004).

LABORATORY TESTS

Materials

Ariri oil was obtained from the coconut of its palm tree by cold extraction via solvent (hexane) and used without any treatment. Coconut collection was carried out at Cidade Universitária Dom Delgado, Federal University of Maranhão (UFMA), in São Luís, MA (2°33'22.6"S 44°18'29.2"W). The α -bisabolol was kindly donated by the company Atina Natural Actives. The enzymes used, Amano lipase PS, from *Burkholderia cepacia* (immobilized in diatomaceous earth), were acquired from Merck e Sigma. The ethanol used was analytical grade and was purchased from Merck e Sigma.

Enzymatic transesterification

To evaluate the possible formation of esters in the enzymatic transesterifications of ariri coconut oil with α -bisabolol, reactions in which the reaction time and the existence of water in the medium were altered, as shown in **Table 6.2**. Reactions 1 and 3 were also performed for the enzymatic transesterifications of ariri coconut oil with ethanol alcohol.

Table 6.2 - Enzymatic reactions of ariri coconut oil with α -bisabolol.

Enzyme load: 5%; Temperature: 50°C; Oil/ α -bisabolol molar ratio: 1:4; Rotation: 800 rpm		
Reaction	Time	Water
1	4h	No
2	8h	Yes
3	24h	No

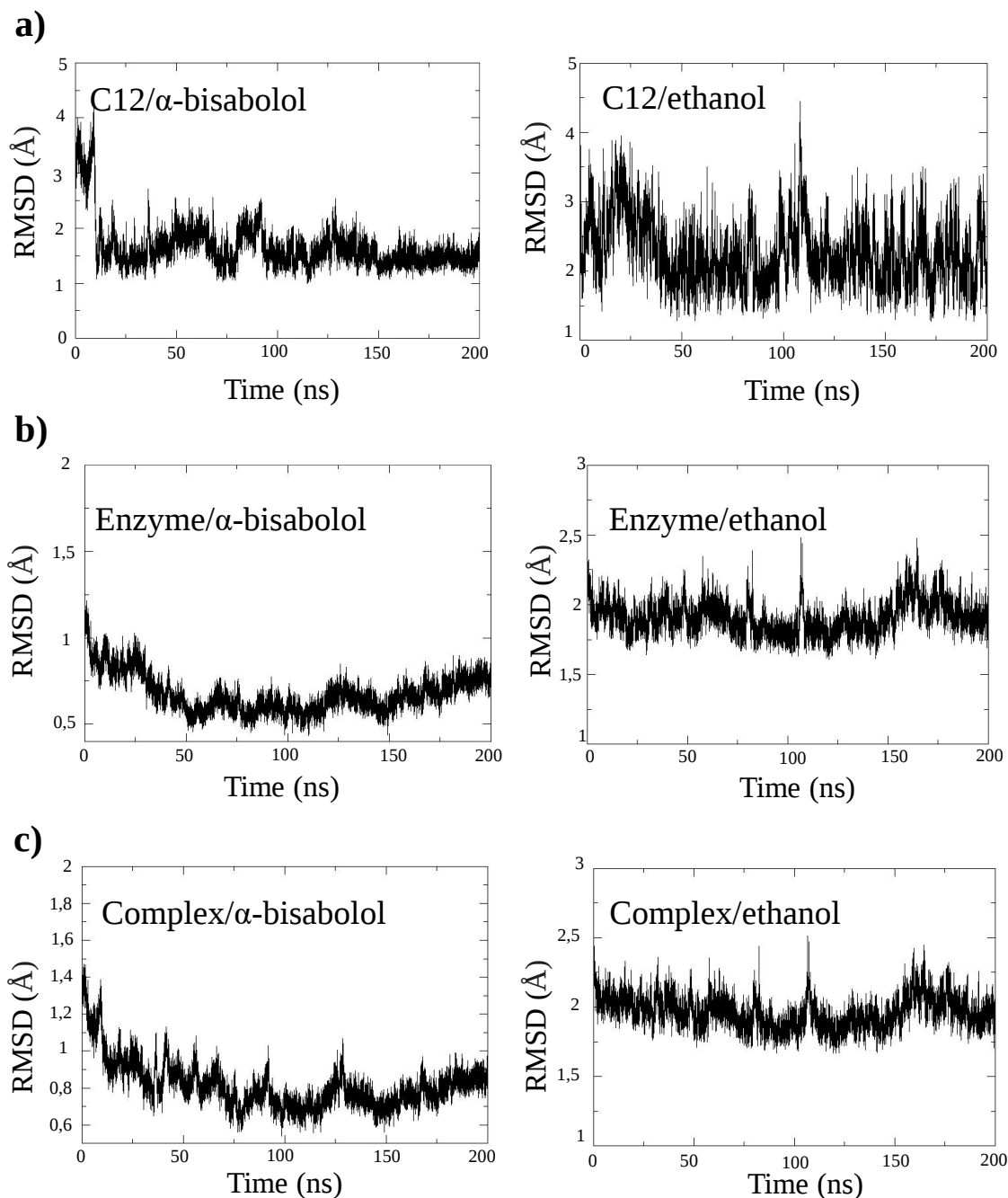
Enzymatic transesterification occurred under constant magnetic stirring at 400 rpm at 50 °C. The experimental system consisted of a 10 mL glass flask with a screw-on cap, a cylindrical chamber, and a magnetic stirrer with heating. At the end of the process, to separate the biocatalyst and the ethyl esters, the reaction product was transferred to a falcon tube and centrifuged at 3600 rpm for 10 min. To monitor the qualitative conversion of vegetable oil into esters, thin-layer chromatography (TLC) was used on silica plates, supported on an aluminum sheet, with a mobile phase hexane: ether: acetic acid (ratio 8:4:0.2) and iodine vapor as developer.

RESULTS AND DISCUSSIONS

COMPUTATIONAL CALCULATIONS

The stability of a compound can be analyzed through mean square deviation (RMSD). Higher RMSD values represent lower protein stability, while lower RMSD confirms protein stability (Aier *et al.*, 2016; Rahman *et al.*, 2012; Wu *et al.*, 2022). **Figure 6.5** shows the fluctuations of the RMSD value for 200 ns simulation in ethanol and α -bisabolol environment.

Figure 6.5 - RMSD for different enzymatic systems with α -bisabolol and ethanol



Source: Authors (2025)

In **Figure 6.5 (a)**, the C12/ethanol system, the peaks ranged from ~ 1.5 to above $4 \text{ \AA}$, with an extraordinary accentuation, indicating that the system was always looking for a position of lower energy so that it could behave. The C12/ α -bisabolol system showed a marked reduction with a deviation of $\sim 1.1 \text{ \AA}$ in its first 10 ns. After this time, a rapid increase in the trend line was observed at $\sim 60, 90$, and 120 ns , but it did not exceed $2.5 \text{ \AA}$. In the last 50 ns, the system has shown excellent stability. The greater stability of C12 with α -bisabolol is generally

remarkable, as its trend line showed a lower RMSD and more minor variations, especially in the last 50 ns.

According to **Figure 6.5 (b)**, the enzyme/ α -bisabolol system has a considerable reduction in the first 10 ns with a deviation of ~ 0.5 Å. After this time, a rapid increase in the trend line was observed at ~ 70 and 130 ns, but did not exceed 0.75 Å. In the last 50 ns, a slight increase in deviation was observed, but consistently below 0.75 Å. When compared, the enzyme/ α -bisabolol system showed a lower trend line with more minor variations, making this system more stable than the enzyme/ethanol system.

When comparing the systems produced through the enzyme, C12, and alcohol, **Figure 6.5 (c)**, the complex/ethanol has its most excellent stability at the beginning up to ~ 55 ns. In contrast, the complex/ α -bisabolol system reached its most excellent stability at the end, from 150 ns. Although apparently, the ethanol system has more minor fluctuations in the trend line, its last 50 ns show a slight increase reached ~ 2.4 Å, unlike the α -bisabolol system that stabilized in the same period not exceeding 1 Å in the RMSD value.

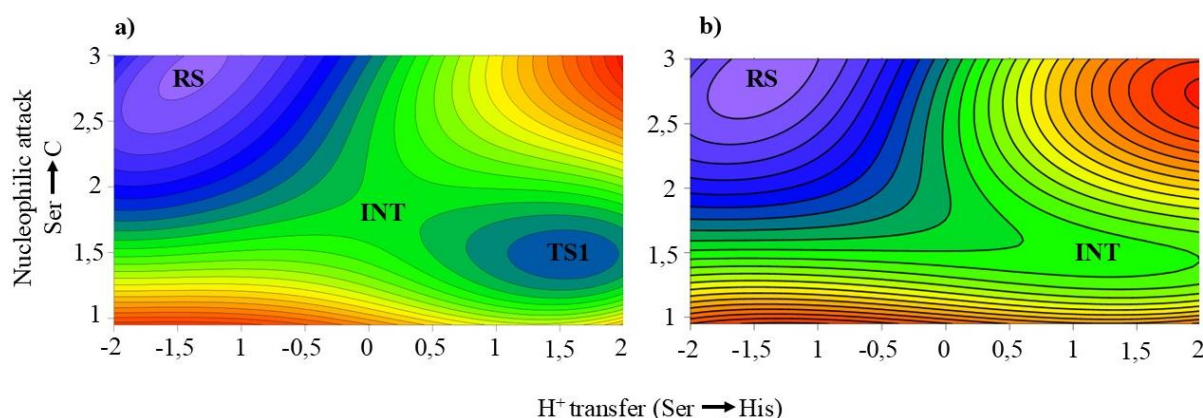
To evaluate more concisely the effect that each alcohol has on the reaction systems, it is necessary to understand the mechanisms involved in the reaction, evaluating the differences that exist in each energy barrier and in the intermediate states throughout the reaction. The lipase-catalyzed transesterification reaction mechanism is of the Bi-Bi Ping Pong type, which involves acylation and deacylation (not considered in this study) steps at the active site of the enzyme, formed by the catalytic triad serine (Ser), histidine (His) and aspartic acid/glutamate (Asp/Glu) (Bousquet-Dubouch *et al.*, 2001). The mechanism starts with acylation. In this step, histidine increases the nucleophilicity of serine, facilitating its reaction with the carbonyl carbon of the triglyceride. This forms a tetrahedral intermediate stabilized by hydrogen bonds, followed by the transfer of a proton from serine to histidine and partial deprotonation of aspartic acid to neutralize the positive charge of the transition complex (Bousquet-Dubouch *et al.*, 2001; Castillo *et al.*, 2016). It is worth noting that this catalytic triad is not exclusive to lipases, but is observed in other enzymes, such as proteases, highlighting the efficiency and versatility of this catalytic arrangement in various biochemical reactions (Aboelnga *et al.*, 2025; Batra *et al.*, 2013; Buller e Townsend, 2013; Dodson, 1998).

The Potential Energy Surface (PES) visually presents the reaction paths and associated energetic changes. The PES graph analyzes the variation in the potential energy of a chemical system as a function of the geometric coordinates of the atoms involved in the reaction. These charts are used to understand and visualize the reaction paths and energetic changes associated

with different states (reactants, products, intermediates, and transition states) throughout a chemical reaction (Cramer, 2004; Jensen, 2017).

Figure 6.6 and **Table 6.3** shows the reaction pathways and associated energetic changes, the reaction mechanism analysis, and the thermodynamic parameters for the acylation stage of the enzymatic transesterifications, respectively.

Figure 6.6 - Graph of the potential energy surface (PES) in the C12 acylation step with α -bisabolol (a) and ethanol (b).



Source: Authors (2025)

Table 6.3 - Thermodynamic parameters in the C12 acylation step with α -bisabolol and ethanol.

Parameter	α -bisabolol	Ethanol
Activation Free Energy ($\Delta G^\ddagger$)	>20.0 kcal/mol	19.2 kcal/mol
Gibbs Free Energy (ΔG)	>20.0 kcal/mol	13.0 kcal/mol

Source: Authors (2025)

The reaction paths are presented in **Figure 6.6**, and the thermodynamic data for the acylation step is shown in **Table 6.3**. It is verified that both reactions start at a low energy point (RS).

The PES for the C12 reaction with α -bisabolol, **Figure 6.6(a)**, demonstrates that although there is no transition states explicitly marked on the graph, the transition from the reactant state (RS) to the intermediate state (INT) involves an increase in potential energy, indicating the presence of one or more significant energy barriers. This evidence is corroborated by its activation and free energy, both greater than 20.0 kcal/mol.

The analysis of the C12 reaction with ethanol, shown in **Figure 6.6 (b)** and **Table 6.3**, indicates that the transition from the reactant state (RS) to the intermediate state (INT) occurs with an increase in the potential energy to the transition state (TS1) and then a decrease. The

activation energy of 19.2 kcal/mol suggests that the reaction has a moderate barrier, relatively more straightforward to overcome when compared to α -bisabolol. The free energy of 13.0 kcal/mol indicates that, even after overcoming the energy barrier, the intermediate still has a significantly higher energy than the reactant state.

Thus, the results presented in **Figure 6.6** and **Table 6.3** suggest that the intermediate formation is non-spontaneous for both reactions under the specified conditions. However, the reaction with ethanol is energetically more favorable and potentially faster than the reaction with α -bisabolol, which has significantly higher energy barriers and free energy differences.

It is noteworthy that although $\Delta G > 0$ indicates that a reaction is not spontaneous under standard conditions, factors such as temperature, pressure, reactant concentrations, effective catalysts, and optimized reaction conditions can significantly improve the viability and efficiency of the reaction (Devaraj Naik B e Udayakumar M, 2023; Tran *et al.*, 2013; Yahya *et al.*, 2018). In addition, the intrinsic molecular properties of the reactants, such as steric effects, can directly influence the kinetics and efficiency of the reaction (Kim *et al.*, 2010; Otera, 1993).

Steric effects play a crucial role in enzymatic transesterification, as substrate accessibility to the enzyme's active site directly influences reaction efficiency. Ethanol, being a small and less bulky molecule, experiences minimal steric hindrance, allowing for easier accommodation within the active site of *Burkholderia cepacia* lipase. In contrast, α -bisabolol, a larger and structurally more complex molecule, faces greater steric constraints, which can hinder its proper positioning for nucleophilic attack by the catalytic triad (Ejikeme *et al.*, 2010; Hanh *et al.*, 2009; Salis *et al.*, 2005a, 2005b).

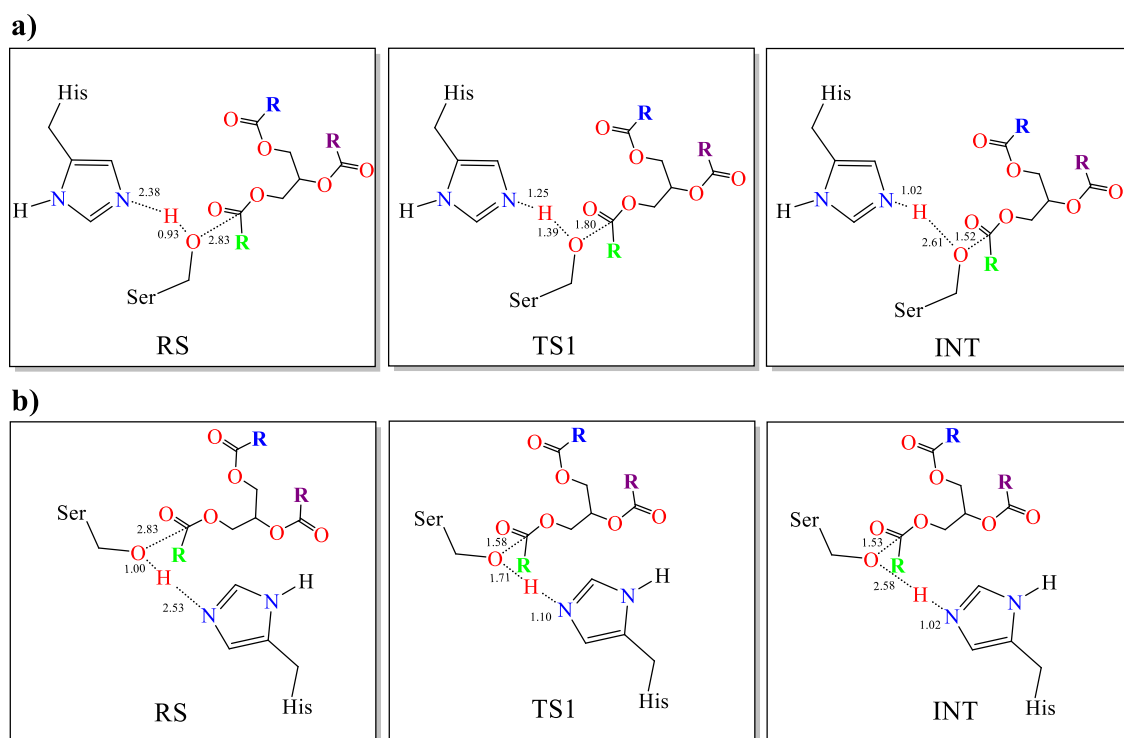
Beyond molecular size, computational calculations revealed additional factors contributing to the lower efficiency of α -bisabolol. The PES analysis indicated that the activation free energy ($\Delta G^\ddagger$) for α -bisabolol was higher than 20.0 kcal/mol, compared to 19.2 kcal/mol for ethanol. This suggests a more challenging transition state formation for α -bisabolol, translating into a slower reaction rate. Additionally, the Gibbs free energy (ΔG) for α -bisabolol was also higher than that for ethanol, indicating a less thermodynamically favorable reaction pathway.

Therefore, while steric hindrance is an important factor, computational results provide deeper mechanistic insights, confirming that both kinetic and thermodynamic parameters contribute to the reduced efficiency of α -bisabolol in enzymatic transesterification.

During an enzymatic reaction, variations in bond distances can provide crucial insights into the underlying mechanisms, particularly in transition states and intermediate formations.

Analyzing these distances helps identify key interactions between catalytic residues and substrates, aiding in the understanding of the stability and reactivity of the intermediates formed throughout the reaction. **Figure 6.7** shows the transition geometries in the acylation stage of C12 with ethanol (a) and α -bisabolol (b).

Figure 6.7 - Transition state geometries in the acylation of C12 with ethanol (a) and α -bisabolol (b).



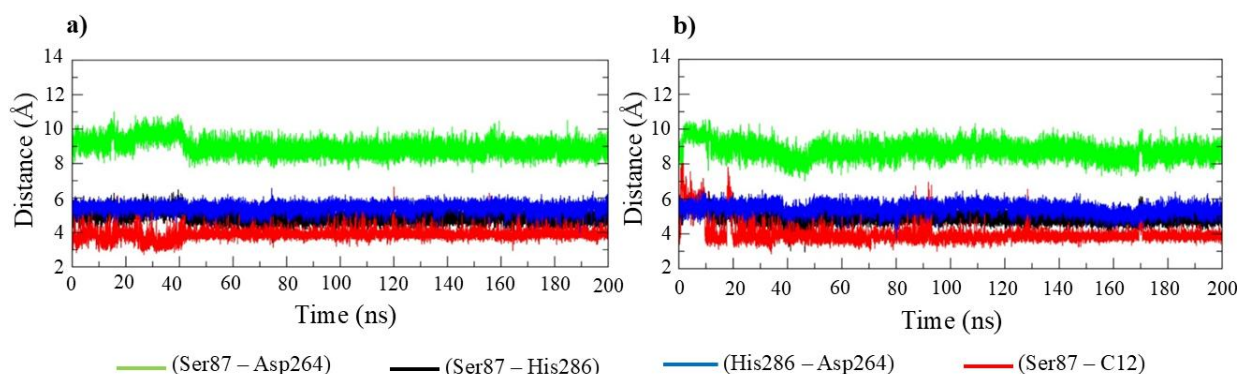
Source: Authors (2024)

As shown, there is a frequent variation in the binding distances provided in the structures, indicating the formation and rupture of bonds during the transformation of the reactant into an intermediate product.

The transition from RS to TS1 involves a reduction in the distance of histidine nitrogen with serine hydrogen from 2.53 Å to 1.10 Å for the α -bisabolol reaction and from 2.38 Å to 1.26 Å for the ethanol reaction, suggesting the breaking of the serine H-O bond. In the intermediate formation (INT) step, the new N-H bond is confirmed with a distance of 1.02 Å, indicating the complete formation of a strong covalent bond in the intermediate for both reactions (J. Li *et al.*, 2022; Song *et al.*, 2001).

Figure 6.8 shows the evolution of the interatomic distances selected throughout the reaction for each alcohol used.

Figure 6.8 - Time and evolution of the interatomic distances between each catalytic triad residue in the C12 acylation stage with ethanol (a) and α -bisabolol (b).



Source: Authors (2025)

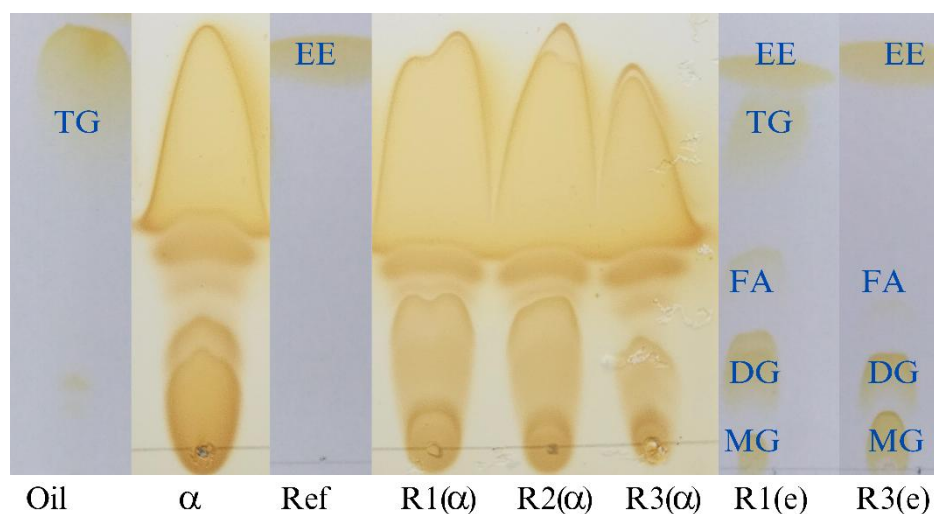
The fluctuations of the interatomic distances observed in **Figure 6.8** demonstrate similar stability between each system, with minor fluctuations for the α -bisabolol system, especially for the Ser87-C12 pair (red). Overall, the fluctuation distances for the α -bisabolol system remain stable but with a slight tendency to fluctuate more compared to ethanol, demonstrating that the ethanol system seems to have a slight advantage in terms of stability of the interatomic distances.

EXPERIMENTAL RESULTS

The conversions or not of the esters were qualitatively observed from TLC, which allows transesterification to be monitored by identifying and observing the changes in the compounds over time (Stahl, 1969).

To perform efficient analysis of conversions, it is necessary to compare the corresponding points of different samples; the displacement or the presence of new points along the plate can indicate the progress of the reaction (Mangold, 1969; Stahl, 1969). In transesterification reactions, a decrease in the point corresponding to the original ester and an increase in the points corresponding to the reaction products performed are expected from the comparison with known standards (Chattopadhyay *et al.*, 2011; Shah *et al.*, 2004). **Figure 6.9** shows the analysis by TLC of the monitoring of the reactions performed.

Figure 6.9 - Chromatoplates indicating the positions of ethyl esters (EE), triglycerides (TG), fatty acids (FA), diglycerides (DG), and monoglycerides (MG).



Oil = ariri coconut oil, α = α -bisabolol, Ref = Mixtures of ethyl esters, R(α)1, 2 and 3 = reaction using α -bisabolol, R(e) 1 and 3 = reaction using ethanol, as shown in **Table 6.1**.

Source: Authors (2025)

As evidenced by **Figure 9**, the reactions with ethanol indicate an efficient transesterification of triglycerides into ethyl esters, especially for the reaction performed in 24h (R3(e)), which practically eliminated the amount of triglycerides and significantly reduced the bands of fatty acids, diglycerides, and monoglycerides (Fontana *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2009). In contrast, reactions with α -bisabolol show a small formation of diglycerides and monoglycerides, evidenced mainly in the reaction performed at 8h and in the presence of water (R2(α)), suggesting that α -bisabolol may be partially acting on the conversion. Therefore, the data obtained from TLC support the results found in the computational calculations, demonstrating that ethanol is more effective to produce ethyl esters from vegetable oils rich in C12.

CONCLUSION

The experimental and computational analysis indicated that ethanol presents a more efficient transesterification, resulting in a significant conversion of triglycerides into ethyl esters, especially after 24 h of reaction. On the other hand, the reaction with α -bisabolol showed a limited formation of diglycerides and monoglycerides, suggesting a lower efficiency in the conversion of triglycerides. The chromatographic results confirmed that ethanol more effectively produces ethyl esters from C12-rich vegetable oils. In addition, the analysis of the

thermodynamic parameters showed that the reaction with ethanol is energetically more favorable and potentially faster than the reaction with α -bisabolol, which presented significantly higher energy barriers.

In the context of the computer simulations, the C12/ α -bisabolol system showed more excellent stability, with more minor variations in the RMSD compared to the C12/ethanol system. However, the ethanol reaction's activation and Gibbs (G) free energy indicated a more accessible and energetically favorable reaction. The data obtained support the conclusion that ethanol is a more efficient and energetically favorable reagent for the enzymatic transesterification of C12-rich oils compared to α -bisabolol. Thus, its sustainable use can be further explored in producing bioproducts from local natural resources. Despite its lower efficiency, future research may improve the use of α -bisabolol in enzymatic transesterification, thus contributing to the diversification and innovation of bioproducts.

REFERENCES

- Aboelnga, M. M., Petgrave, M., Kalyaanamoorthy, S., & Ganesan, A. (2025). Revealing the impact of active site residues in modeling the inhibition mechanism of SARS-Cov-2 main protease by GC373. *Computers in Biology and Medicine*, 187, 109779. <https://doi.org/10.1016/j.compbio.2025.109779>
- Adriaanse, N., Dekker, H., & Coops, J. (1965). Heats of combustion of normal saturated fatty acids and their methyl esters. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, 84(3), 393–407. <https://doi.org/10.1002/recl.19650840316>
- Aier, I., Varadwaj, P. K., & Raj, U. (2016). Structural insights into conformational stability of both wild-type and mutant EZH2 receptor. *Scientific Reports*, 6(1), 34984. <https://doi.org/10.1038/srep34984>
- Akhabue, C. E., & Ogogo, J. A. (2018). Modelling and optimization of transesterification of palm kernel oil catalysed by calcium oxide derived from hen eggshell wastes. *Ife Journal of Science*, 20(1), 127. <https://doi.org/10.4314/ij.s.v20i1.13>
- Alexandre, J. Y. N. H., Cavalcante, F. T. T., Freitas, L. M., Castro, A. P., Borges, P. T., de Sousa Junior, P. G., Filho, M. N. R., Lopes, A. A. S., da Fonseca, A. M., Lomonaco, D., de Sousa Rios, M. A., & Sousa dos Santos, J. C. (2022). A Theoretical and Experimental Study for Enzymatic Biodiesel Production from Babassu Oil (*Orbignya* sp.) Using Eversa Lipase. *Catalysts*, 12(11), 1322. <https://doi.org/10.3390/catal12111322>

- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N., & Mehrotra, R. (2010a). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N., & Mehrotra, R. (2010b). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Batistuzzo, J. A. de O., Itaya, M., & Autor, Y. E. (2015). *Formulário Médico Farmacêutico* (5th ed.). Atheneu.
- Batra, J., Szabó, A., Caulfield, T. R., Soares, A. S., Sahin-Tóth, M., & Radisky, E. S. (2013). Long-range Electrostatic Complementarity Governs Substrate Recognition by Human Chymotrypsin C, a Key Regulator of Digestive Enzyme Activation. *Journal of Biological Chemistry*, 288(14), 9848–9859. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.457382>
- Boneta, S., Arafet, K., & Moliner, V. (2021). QM/MM Study of the Enzymatic Biodegradation Mechanism of Polyethylene Terephthalate. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 61(6), 3041–3051. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.1c00394>
- Bousquet-Dubouch, M. P., Graber, M., Sousa, N., Lamare, S., & Legoy, M. D. (2001). Alcoholysis catalyzed by *Candida antarctica* lipase B in a gas/solid system obeys a Ping Pong Bi Bi mechanism with competitive inhibition by the alcohol substrate and water. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1550(1), 90–99. [https://doi.org/10.1016/s0167-4838\(01\)00273-4](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(01)00273-4)
- Brahma, S., Nath, B., Basumatary, B., Das, B., Saikia, P., Patir, K., & Basumatary, S. (2022). Biodiesel production from mixed oils: A sustainable approach towards industrial biofuel production. *Chemical Engineering Journal Advances*, 10, 100284. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.100284>
- Buller, A. R., & Townsend, C. A. (2013). Intrinsic evolutionary constraints on protease structure, enzyme acylation, and the identity of the catalytic triad. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(8). <https://doi.org/10.1073/pnas.1221050110>
- Castillo, E., Casas-Godoy, L., & Sandoval, G. (2016). Medium-engineering: a useful tool for modulating lipase activity and selectivity. *Biocatalysis*, 1(1). <https://doi.org/10.1515/boca-2015-0013>
- Chattopadhyay, S., Das, S., & Sen, R. (2011). Rapid and precise estimation of biodiesel by high performance thin layer chromatography. *Applied Energy*, 88(12), 5188–5192. <https://doi.org/10.1016/j.apenergy.2011.07.027>

- Cordeiro, C. S., Silva, F. R. da, Wypych, F., & Ramos, L. P. (2011). Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). *Química Nova*, 34(3), 477–486. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000300021>
- Cramer, C. J. (2004). *Essentials of computational chemistry: Theories and models* (2nd ed.). Wiley.
- Darden, T., York, D., & Pedersen, L. (1993). Particle mesh Ewald: An $N \cdot \log(N)$ method for Ewald sums in large systems. *The Journal of Chemical Physics*, 98(12), 10089–10092. <https://doi.org/10.1063/1.464397>
- Dayrit, F. M. (2015). *Lauric Acid is a Medium-Chain Fatty Acid , Coconut Oil is a Medium-Chain Triglyceride*. <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:21724557>
- Devaraj Naik B, & Udayakumar M. (2023). Kinetics and thermodynamic analysis of transesterification of waste cooking sunflower oil using bentonite-supported sodium methoxide catalyst. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 13(11), 9701–9714. <https://doi.org/10.1007/s13399-021-01836-9>
- Dodson, G. (1998). Catalytic triads and their relatives. *Trends in Biochemical Sciences*, 23(9), 347–352. [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(98\)01254-7](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(98)01254-7)
- dos Santos, A. M., Lima, A. H., Alves, C. N., & Lameira, J. (2017). Unraveling the Addition–Elimination Mechanism of EPSP Synthase through Computer Modeling. *The Journal of Physical Chemistry B*, 121(37), 8626–8637. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b05063>
- Ejikeme, P. M., Anyaogu, I. D., Ejikeme, C. L., Nwafor, N. P., Egbuonu, C. A. C., Ukogu, K., & Ibemesi, J. A. (2010). Catalysis in Biodiesel Production by Transesterification Processes-An Insight. *Journal of Chemistry*, 7(4), 1120–1132. <https://doi.org/10.1155/2010/689051>
- Farias, P. A. M., Da Silva, I. A., De Queiroz, A. L. F. G., Silva, J. G., Melo, E. R. D., Barros, J. M. de M., Laurentino, C. da S., & Coimbra, C. G. de O. (2021). Propriedades terapêuticas de plantas do gênero *Syagrus*: uma revisão integrativa / Therapeutic properties of plants of the genus *Syagrus*: an integrative review. *Brazilian Journal of Development*, 7(8), 76999–77010. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n8-087>
- Farouk, S. M., Tayeb, A. M., Abdel-Hamid, S. M. S., & Osman, R. M. (2024). Recent advances in transesterification for sustainable biodiesel production, challenges, and prospects: a comprehensive review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(9), 12722–12747. <https://doi.org/10.1007/s11356-024-32027-4>

- Feller, S. E., Zhang, Y., Pastor, R. W., & Brooks, B. R. (1995). Constant pressure molecular dynamics simulation: The Langevin piston method. *The Journal of Chemical Physics*, 103(11), 4613–4621. <https://doi.org/10.1063/1.470648>
- Fernandes, M. Y. D., Carmo, M. R. S. do, Fonteles, A. A., Neves, J. C. de S., Silva, A. T. A. da, Pereira, J. F., Ferreira, E. de O., Lima, N. M. R. de, Neves, K. R. T., & Andrade, G. M. de. (2019). (-)- α -bisabolol prevents neuronal damage and memory deficits through reduction of proinflammatory markers induced by permanent focal cerebral ischemia in mice. *European Journal of Pharmacology*, 842, 270–280. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.09.036>
- Field, M. J. (2008). The pDynamo Program for Molecular Simulations using Hybrid Quantum Chemical and Molecular Mechanical Potentials. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 4(7), 1151–1161. <https://doi.org/10.1021/ct800092p>
- Fjerbaek, L., Christensen, K. V., & Norddahl, B. (2009). A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(5), 1298–1315. <https://doi.org/10.1002/BIT.22256>
- Fontana, J. D., Zagonel, G., Vechiatto, W. W., Costa, B. J., Laurindo, J. C., Fontana, R., Pelisson, L., Jorge, B. H., & Lancas, F. M. (2009). Simple TLC-Screening of Acylglycerol Levels in Biodiesel as an Alternative to GC Determination. *Journal of Chromatographic Science*, 47(9), 844–846. <https://doi.org/10.1093/chromsci/47.9.844>
- Gog, A., Roman, M., Toşa, M., Paizs, C., & Irimie, F. D. (2012). Biodiesel production using enzymatic transesterification – Current state and perspectives. *Renewable Energy*, 39(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.08.007>
- Gotovuša, M., Pucko, I., Racar, M., & Faraguna, F. (2022). Biodiesel Produced from Propanol and Longer Chain Alcohols—Synthesis and Properties. *Energies*, 15(14), 4996. <https://doi.org/10.3390/en15144996>
- Guldhe, A., Singh, P., Ansari, F. A., Singh, B., & Bux, F. (2017). Biodiesel synthesis from microalgal lipids using tungstated zirconia as a heterogeneous acid catalyst and its comparison with homogeneous acid and enzyme catalysts. *Fuel*, 187, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.053>
- Hanh, H. D., Dong, N. T., Okitsu, K., Nishimura, R., & Maeda, Y. (2009). Biodiesel production through transesterification of triolein with various alcohols in an ultrasonic field. *Renewable Energy*, 34(3), 766–768. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.04.007>
- Hoover, W. G. (1986). Constant-pressure equations of motion. *Physical Review A*, 34(3), 2499–2500. <https://doi.org/10.1103/PhysRevA.34.2499>

- Huang, J., & MacKerell, A. D. (2013). CHARMM36 all-atom additive protein force field: Validation based on comparison to NMR data. *Journal of Computational Chemistry*, 34(25), 2135–2145. <https://doi.org/10.1002/jcc.23354>
- Huang, J., Rauscher, S., Nawrocki, G., Ran, T., Feig, M., de Groot, B. L., Grubmüller, H., & MacKerell, A. D. (2017). CHARMM36m: an improved force field for folded and intrinsically disordered proteins. *Nature Methods*, 14(1), 71–73. <https://doi.org/10.1038/nmeth.4067>
- Hwang, H. T., Qi, F., Yuan, C., Zhao, X., Ramkrishna, D., Liu, D., & Varma, A. (2014). Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Protein engineering and lipase production. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(4), 639–653. <https://doi.org/10.1002/bit.25162>
- Iha, O. K., Alves, F. C. S. C., Suarez, P. A. Z., de Oliveira, M. B. F., Meneghetti, S. M. P., Santos, B. P. T., & Soletti, J. I. (2014). Physicochemical properties of Syagrus coronata and Acrocomia aculeata oils for biofuel production. *Industrial Crops and Products*, 62, 318–322. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.09.003>
- Jaeger, K.-E., & Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00341-5)
- Jensen, F. (2017). *Introduction to Computational Chemistry* (3rd ed.). Wiley.
- Jerves, C., Neves, R. P. P., Ramos, M. J., da Silva, S., & Fernandes, P. A. (2021). Reaction Mechanism of the PET Degrading Enzyme PETase Studied with DFT/MM Molecular Dynamics Simulations. *ACS Catalysis*, 11(18), 11626–11638. <https://doi.org/10.1021/acscatal.1c03700>
- Jindal, G., & Warshel, A. (2016). Exploring the Dependence of QM/MM Calculations of Enzyme Catalysis on the Size of the QM Region. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(37), 9913–9921. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b07203>
- Kamatou, G. P. P., & Viljoen, A. M. (2010). A Review of the Application and Pharmacological Properties of α -Bisabolol and α -Bisabolol-Rich Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 87(1), 1–7. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1483-3>
- Kim, M., DiMaggio, C., Yan, S., Salley, S. O., & Ng, K. Y. S. (2010). The synergistic effect of alcohol mixtures on transesterification of soybean oil using homogeneous and heterogeneous catalysts. *Applied Catalysis A: General*, 378(2), 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2010.02.009>
- Li, J., Chen, J., Wang, Y., & Yao, L. (2022). Detecting the Hydrogen Bond Cooperativity in a Protein β -Sheet by H/D Exchange. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14821. <https://doi.org/10.3390/ijms232314821>

- Li, Y., Qiu, F., Yang, D., Sun, P., & Li, X. (2012). Transesterification of soybean oil and analysis of bioproduct. *Food and Bioproducts Processing*, 90(2), 135–140. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2011.02.004>
- Liao, R., & Thiel, W. (2013). Convergence in the QM-only and QM/MM modeling of enzymatic reactions: A case study for acetylene hydratase. *Journal of Computational Chemistry*, 34(27), 2389–2397. <https://doi.org/10.1002/jcc.23403>
- Lichtenstein, A. H. (2023). Lipids (fats and oils). In *Encyclopedia of Human Nutrition* (pp. 291–300). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821848-8.00013-5>
- Lisboa, M. C., Wiltshire, F. M. S., Fricks, A. T., Dariva, C., Carrière, F., Lima, Á. S., & Soares, C. M. F. (2020). Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plants. *Biochimie*, 178, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.002>
- Lukovic, N., Kneevic-Jugovic, Z., & Bezbradic, D. (2011). Biodiesel Fuel Production by Enzymatic Transesterification of Oils: Recent Trends, Challenges and Future Perspectives. In *Alternative Fuel*. InTech. <https://doi.org/10.5772/21905>
- Magalhães, R. P., Fernandes, H. S., & Sousa, S. F. (2020). Modelling Enzymatic Mechanisms with QM/MM Approaches: Current Status and Future Challenges. *Israel Journal of Chemistry*, 60(7), 655–666. <https://doi.org/10.1002/ijch.202000014>
- Mangold, H. K. (1969). Aliphatic Lipids. In *Thin-Layer Chromatography* (pp. 363–421). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-88488-7_14
- Mark, P., & Nilsson, L. (2001). Structure and Dynamics of the TIP3P, SPC, and SPC/E Water Models at 298 K. *The Journal of Physical Chemistry A*, 105(43), 9954–9960. <https://doi.org/10.1021/jp003020w>
- Martínez, L., Andrade, R., Birgin, E. G., & Martínez, J. M. (2009). PACKMOL: A package for building initial configurations for molecular dynamics simulations. *Journal of Computational Chemistry*, 30(13), 2157–2164. <https://doi.org/10.1002/jcc.21224>
- Martins, J., Santos, J., & Conceição, M. (2020). Comparative Study of Physico-Chemical Properties of Coconut Oil (*Cocos nucifera* L.) Obtained by Industrial and Artisanal Processes. *BioTechnology: An Indian Journal*, 16, 1. [https://doi.org/10.37532/tsbt.2020.16\(3\).210](https://doi.org/10.37532/tsbt.2020.16(3).210)
- MEHER, L., VIDYASAGAR, D., & NAIK, S. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2004.09.002>
- NC-IUBMB. (n.d.). *Classification and Nomenclature of Enzymes by the Reactions they Catalyse*. Retrieved June 18, 2024, from <https://iubmb.qmul.ac.uk/enzyme/rules.html>

- Neese, F. (2022). Software update: The ORCA program system—Version 5.0. *WIREs Computational Molecular Science*, 12(5). <https://doi.org/10.1002/wcms.1606>
- Nelson, L. A., Foglia, T. A., & Marmer, W. N. (1996). Lipase-catalyzed production of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(9), 1191–1195. <https://doi.org/10.1007/BF02523383>
- Norjannah, B., Ong, H. C., Masjuki, H. H., Juan, J. C., & Chong, W. T. (2016). Enzymatic transesterification for biodiesel production: a comprehensive review. *RSC Advances*, 6(65), 60034–60055. <https://doi.org/10.1039/C6RA08062F>
- Otera, Junzo. (1993). Transesterification. *Chemical Reviews*, 93(4), 1449–1470. <https://doi.org/10.1021/cr00020a004>
- Phillips, J. C., Hardy, D. J., Maia, J. D. C., Stone, J. E., Ribeiro, J. V., Bernardi, R. C., Buch, R., Fiorin, G., Hénin, J., Jiang, W., McGreevy, R., Melo, M. C. R., Radak, B. K., Skeel, R. D., Singharoy, A., Wang, Y., Roux, B., Aksimentiev, A., Luthey-Schulten, Z., ...
- Tajkhorshid, E. (2020). Scalable molecular dynamics on CPU and GPU architectures with NAMD. *The Journal of Chemical Physics*, 153(4). <https://doi.org/10.1063/5.0014475>
- Pinto, A. C., Guarieiro, L. L. N., Rezende, M. J. C., Ribeiro, N. M., Torres, E. A., Lopes, W. A., Pereira, P. A. de P., & Andrade, J. B. de. (2005). Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6b), 1313–1330. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000800003>
- Pires, T. de P. R. S. (2020). *Bioprospecção de Syagrus cocoides martius: potencial produtivo, caracterização química, avaliação da toxicidade e do efeito cardiovascular em ratos* [Tese de doutorado]. Universidade Federal do Maranhão.
- Porto de Souza Vandenberghe, L., Karp, S. G., Binder Pagnoncelli, M. G., von Linsingen Tavares, M., Libardi Junior, N., Valladares Diestra, K., Viesser, J. A., & Soccol, C. R. (2020). Classification of enzymes and catalytic properties. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 11–30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819820-9.00002-8>
- Prudente, D. O., Nery, F. C., Paiva, R., Goulart, V. L. Á., & Anselmo, A. C. N. (2016). Micropropagação de Candeia, Uma Espécie Nativa do Cerrado Brasileiro. *Scientia Agraria Paranaensis*, 15(3), 305–311. <https://doi.org/10.18188/1983-1471/sap.v15n3p305-311>
- Rahman, M. Z. A., Salleh, A. B., Rahman, R. N. Z. R. A., Rahman, M. B. A., Basri, M., & Leow, T. C. (2012). Unlocking the mystery behind the activation phenomenon of T1 lipase: A molecular dynamics simulations approach. *Protein Science*, 21(8), 1210–1221. <https://doi.org/10.1002/pro.2108>

- Ramos, M., Dias, A. P. S., Puna, J. F., Gomes, J., & Bordado, J. C. (2019). Biodiesel Production Processes and Sustainable Raw Materials. *Energies*, 12(23), 4408. <https://doi.org/10.3390/en12234408>
- Řezáč, J., Fanfrlík, J., Salahub, D., & Hobza, P. (2009). Semiempirical Quantum Chemical PM6 Method Augmented by Dispersion and H-Bonding Correction Terms Reliably Describes Various Types of Noncovalent Complexes. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 5(7), 1749–1760. <https://doi.org/10.1021/ct9000922>
- Rezende, M., de Lima, A. L., Silva, B., Mota, C., Torres, E., da Rocha, G., Cardozo, I., Costa, K., Guarieiro, L., Pereira, P., Martinez, S., & de Andrade, J. (2021). Biodiesel: An Overview II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210046>
- Roe, D. R., & Cheatham, T. E. (2013). PTRAJ and CPPTRAJ: Software for Processing and Analysis of Molecular Dynamics Trajectory Data. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 9(7), 3084–3095. <https://doi.org/10.1021/ct400341p>
- Roux, B. (1995). The calculation of the potential of mean force using computer simulations. *Computer Physics Communications*, 91(1–3), 275–282. [https://doi.org/10.1016/0010-4655\(95\)00053-I](https://doi.org/10.1016/0010-4655(95)00053-I)
- Rücker, G. (1973). Sesquiterpenes. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 12(10), 793–806. <https://doi.org/10.1002/anie.197307931>
- Ruiz-Pernía, J. J., Silla, E., Tuñón, I., Martí, S., & Moliner, V. (2004). Hybrid QM/MM Potentials of Mean Force with Interpolated Corrections. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(24), 8427–8433. <https://doi.org/10.1021/jp049633g>
- Sabin, J. R. (2010). *Combining Quantum Mechanics and Molecular Mechanics. Some Recent Progresses in QM/MM Methods* (1st ed., Vol. 59). Academic Press.
- Salaheldeen, M., Mariod, A. A., Aroua, M. K., Rahman, S. M. A., Soudagar, M. E. M., & Fattah, I. M. R. (2021). Current State and Perspectives on Transesterification of Triglycerides for Biodiesel Production. *Catalysts*, 11(9), 1121. <https://doi.org/10.3390/catal11091121>
- Sales, A. R. R., Albuquerque, T. da N., Xavier, L. E., Santana, A. G., Silva, O. S., Costa, S. dos S., Fonseca, S. B., & Meireles, B. R. L. de A. (2020). Caracterização físico-química do óleo de coco babaçu industrial e artesanal e suas aplicações tecnológicas. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 25734–25748. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-140>
- Salihu, A., Alam, Md. Z., AbdulKarim, M. I., & Salleh, H. M. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 58, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.10.007>

- Salis, A., Pinna, M., Monduzzi, M., & Solinas, V. (2005a). Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. *Journal of Biotechnology*, 119(3), 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.04.009>
- Salis, A., Pinna, M., Monduzzi, M., & Solinas, V. (2005b). Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. *Journal of Biotechnology*, 119(3), 291–299. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2005.04.009>
- Salomon-Ferrer, R., Case, D. A., & Walker, R. C. (2013). An overview of the Amber biomolecular simulation package. *WIREs Computational Molecular Science*, 3(2), 198–210. <https://doi.org/10.1002/wcms.1121>
- Santos, F. F. P., Rodrigues, S., & Fernandes, F. A. N. (2009). Optimization of the production of biodiesel from soybean oil by ultrasound assisted methanolysis. *Fuel Processing Technology*, 90(2), 312–316. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2008.09.010>
- Schenter, G. K., Garrett, B. C., & Truhlar, D. G. (2003). Generalized transition state theory in terms of the potential of mean force. *The Journal of Chemical Physics*, 119(12), 5828–5833. <https://doi.org/10.1063/1.1597477>
- Schuchardt, U., Sercheli, R., & Vargas, R. M. (1998). Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9(3). <https://doi.org/10.1590/S0103-50531998000300002>
- Shah, S., Sharma, S., & Gupta, M. (2003). Enzymatic transesterification for biodiesel production. *Indian Journal of Biochemistry & Biophysics*, 40, 392–399.
- Shah, S., Sharma, S., & Gupta, M. N. (2004). Biodiesel Preparation by Lipase-Catalyzed Transesterification of *Jatropha* Oil. *Energy & Fuels*, 18(1), 154–159. <https://doi.org/10.1021/ef030075z>
- Silva, C. P. de C., Coelho Junior, L. M., Oliveira, A. D. de, Scolforo, J. R. S., Rezende, J. L. P. de, & Lima, I. C. G. (2012). Economic analysis of agroforestry systems with candeia. *CERNE*, 18(4), 585–594. <https://doi.org/10.1590/S0104-77602012000400008>
- Søndergaard, C. R., Olsson, M. H. M., Rostkowski, M., & Jensen, J. H. (2011). Improved Treatment of Ligands and Coupling Effects in Empirical Calculation and Rationalization of pK_a Values. *Journal of Chemical Theory and Computation*, 7(7), 2284–2295. <https://doi.org/10.1021/ct200133y>
- Song, X., Rienstra, C. M., & McDermott, A. E. (2001). N-H bond stretching in histidine complexes: a solid-state NMR study. *Magnetic Resonance in Chemistry*, 39(S1), S30–S36. <https://doi.org/10.1002/mrc.956>

- Souza, E. R. L. de, Gomes, N. M. L., Cruz, J. H. de A., Santos, J. F. D. dos, & Oliveira Filho, A. A. de. (2020). Propriedades farmacológicas do Sesquiterpeno α - Bisabolol: uma breve revisão. *ARCHIVES OF HEALTH INVESTIGATION*, 10(1), 18–23.
<https://doi.org/10.21270/archi.v10i1.3183>
- Stahl, E. (1969). Apparatus and General Techniques in TLC. In *Thin-Layer Chromatography* (pp. 52–86). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-88488-7_3
- Szczęsna Antczak, M., Kubiak, A., Antczak, T., & Bielecki, S. (2009). Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. *Renewable Energy*, 34(5), 1185–1194. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.11.013>
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., Muniyandi, B., Ranganathan, S., & Lin, L. (2019). Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy*, 3(1), 2–23. <https://doi.org/10.1093/ce/zky020>
- Tran, D.-T., Lin, Y.-J., Chen, C.-L., & Chang, J.-S. (2013). Kinetics of transesterification of olive oil with methanol catalyzed by immobilized lipase derived from an isolated *Burkholderia* sp. strain. *Bioresource Technology*, 145, 193–203.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.146>
- Trott, O., & Olson, A. J. (2010). AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *Journal of Computational Chemistry*, 31(2), 455–461. <https://doi.org/10.1002/jcc.21334>
- Vieira, J. S., Sousa, T., Rosas, L., Lima, A., Ronconi, C., & Mota, C. (2017). ESTERIFICAÇÃO E TRANSESTERIFICAÇÃO HOMOGÊNEA DE ÓLEOS VEGETAIS CONTENDO ALTO TEOR DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES. *Química Nova*.
<https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170148>
- WFO. (2024). *Syagrus Mart.* <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000037145>
- Wu, D., Duan, R., Tang, L., Zhou, D., Zeng, Z., Wu, W., Hu, J., & Sun, Q. (2022). In-vitro binding analysis and inhibitory effect of capsaicin on lipase. *LWT*, 154, 112674.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112674>
- Yahya, N. Y., Ngadi, N., Wong, S., & Hassan, O. (2018). Transesterification of used cooking oil (UCO) catalyzed by mesoporous calcium titanate: Kinetic and thermodynamic studies. *Energy Conversion and Management*, 164, 210–218.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2018.03.011>
- Zhang, R., Lev, B., Cuervo, J. E., Noskov, S. Y., & Salahub, D. R. (2010). *A Guide to QM/MM Methodology and Applications* (pp. 353–400). [https://doi.org/10.1016/S0065-3276\(10\)59010-5](https://doi.org/10.1016/S0065-3276(10)59010-5)

Zhao, Y., & Truhlar, D. G. (2008). The M06 suite of density functionals for main group thermochemistry, thermochemical kinetics, noncovalent interactions, excited states, and transition elements: two new functionals and systematic testing of four M06-class functionals and 12 other functionals. *Theoretical Chemistry Accounts*, 120(1–3), 215–241.
<https://doi.org/10.1007/s00214-007-0310-x>

7 USO INOVADOR DO ÓLEO DE ARIRI NA PRODUÇÃO SUSTENTÁVEL E RÁPIDA DE ÉSTERES VIA TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA COM ETANOL (ARTIGO EM INGLÊS)

Artigo submetido ao periódico “Revista Ciência e Natura”

ISSN: 2179-460X

Qualis – A3 (Biotecnologia 2017-2020)

RESUMO

O presente trabalho realizou pela primeira vez a caracterização e a etanolização do óleo de coco de ariri catalisada pela lipase *Burkholderia cepacia*. Através do Planejamento Fatorial Completo 3² e da Metodologia de Superfície de Resposta (MSR), foram avaliados os efeitos de diferentes razões molares de óleo/etanol (1:4, 1:6 e 1:9) e cargas catalíticas (2%, 5% e 10%), utilizando *B. Cepacia* na forma livre e imobilizada, em um tempo de reação de 4 h. A caracterização química do óleo de coco ariri mostrou a predominância de ácidos graxos saturados (78,52%), sendo o ácido láurico (C12:0) o majoritário com 31,65%. O óleo de ariri apresentou características típicas de óleos vegetais adequados para a transesterificação enzimática. Os resultados experimentais mostraram que o melhor teor de ésteres etílicos (67,1%) foi obtido com a lipase imobilizada, com uma carga catalítica de 2% e na relação óleo/etanol de 1:4. Para as reações empregando a lipase livre, os melhores resultados (62,8%) foram obtidos com uma carga catalítica de 10% e na razão óleo/etanol de 1:6. As análises estatísticas indicaram que a carga catalítica era a variável mais significativa para as reações com a lipase livre. Em contrapartida, a relação óleo/etanol foi a variável mais significativa para as reações com a lipase imobilizada. Os resultados deste estudo estabelecem o óleo de coco ariri como um substrato inovador e promissor para aplicações em reações de transesterificação.

Palavras-chave: Biocatálise; *Burkholderia cepacia*; Ésteres

ABSTRACT

The present paper performed for the first time the characterisation and ethanolization of ariri coconut oil catalysed by the lipase *Burkholderia cepacia*. Through the Complete Factor Planning 3² and the Response Surface Methodology (MSR), the effects of different molar ratios of oil/ethanol (1:4, 1:6, and 1:9) and catalytic loads (2%, 5%, and 10%) were evaluated, using *B. Cepacia* in free and immobilised form, in a reaction time of 4 h. The chemical characterisation of the ariri coconut oil showed the predominance of saturated fatty acids

(78.52%), with lauric acid (C12:0) being the majority at 31.65%. Ariri coconut oil showed typical characteristics of vegetable oils suitable for enzymatic transesterification. The experimental results showed that the best ethyl ester content (67.1%) was obtained with the lipase immobilised, with a catalytic load of 2% and in the oil/ethanol ratio of 1:4. For reactions employing the free lipase, the best results (62.8%) were obtained with a catalytic load of 10% and in the oil/ethanol ratio of 1:6. The statistical analyses indicated that the catalytic load was the most significant variable for the reactions with the free lipase. In contrast, the oil/ethanol ratio was the most significant variable for the reactions with the immobilised lipase. The results of this study establish ariri coconut oil as a innovative and promising substrate for applications in transesterification reactions.

Keywords: Biocatalysts; *Burkholderia cepacia*; Esters

INTRODUCTION

Transesterification reactions are widely used in the formation of polymers (Leung *et al.*, 2023), in the degradation of pollutants (Kim *et al.*, 2021), in the formulation of pharmaceuticals (Rao *et al.*, 2021), in the production of biolubricants, and in other bioproducts (Morales *et al.*, 2020; Ng *et al.*, 2020; Nie *et al.*, 2020). However, their main application has been synthesising of esters from triglycerides (TG) from oils and fats (Luna *et al.*, 2016; Mumtaz *et al.*, 2017; Orege *et al.*, 2022).

Oils and fats are transesterified by the reaction of 1 mol TG with 3 moles of alcohol produce a mixture of fatty acid esters and glycerol as a by-product. During the process, catalysts are used to make the process more efficient and economical, thus obtaining higher yields (Luna *et al.*, 2016; Thangaraj *et al.*, 2019).

In the transesterification of oil and/or fat, the most used catalysts are NaOH, KOH, HCl, and metal oxides; however, these catalysts present certain problems, such as difficulty of separation, contamination of the medium, sensitivity to certain TG, corrosion, leaching, soap formation, severe reaction conditions, and environmental issues, among others (Baskar *et al.*, 2017; Rezende *et al.*, 2021; Rizwanul Fattah *et al.*, 2020).

In the face of problems associated with these catalysts, there has been a notable shift towards the utilisation of enzymatic catalysis in the transesterification of oils and fats.

Enzymatic catalysis has brought excellent results. Its use stands out mainly for its environmentally favourable route and the lower energy consumption caused by milder reaction conditions. Although selective, they have shown efficient catalytic activity for different types

of TG since they are little influenced by the quality of the raw material. Its products have high purity, and the enzymes have greater thermal and chemical stability when immobilised (Fjerbaek *et al.*, 2009; Guldhe *et al.*, 2017; Santos *et al.*, 2020; Yuzbasheva *et al.*, 2014).

Despite their growing demand, enzymatic catalysis ou biocatalysis is still little used compared to other catalysts, mainly due to their long reaction time and the high costs to obtain them, it so that different methodological procedures have been applied to favor its use (T. A. Andrade *et al.*, 2019; Bajaj *et al.*, 2010; Narwal e Gupta, 2013a; Sandoval *et al.*, 2017).

The main biocatalysts used to obtain esters are triacylglycerol lipases or simply lipases, which are enzymes belonging to the group of hydrolases, classified under E.C. 3.1.1.3, according to the International Union of Biochemistry (IUB) (Jaeger e Eggert, 2002a; McDonald e Tipton, 2023; Nelson *et al.*, 1996; Sánchez *et al.*, 2018).

Lipases obtained from the bacterium *Burkholderia cepacia*, formerly known as *Pseudomonas cepacia*, stand out as one of the main biocatalysts used in transesterification reactions. Their high stability and chemical specificity allows them to be applied in different reaction conditions (Bajaj *et al.*, 2010; Jaeger e Eggert, 2002b; Porto de Souza Vandenberghe *et al.*, 2020; Salihu *et al.*, 2012; Thangaraj *et al.*, 2019).

Lipases can be used in free or immobilised form to achieve different results. When immobilised, they may present greater stability, an improvement in activity and tolerance to alcohol, especially for methanol. There is a simplification in the separation of the product, and its reuse can be facilitated, thus reducing the costs linked to the process (Narwal e Gupta, 2013b; Remonatto *et al.*, 2022; Selmi e Thomas, 1998; Zhao *et al.*, 2015). Immobilization, although beneficial, will not always allow the best results to be obtained, so, individual assessments must be made for each set of substrates used in the reaction (Kumar *et al.*, 2022).

In addition to the biocatalysts, the choice of alcohol used in enzymatic catalysis can have a direct impact on reaction yields. Methanol has been the most widely used alcohol in enzymatic transesterification reactions due to its high reactivity, however, its high toxicity can cause denaturation of the lipase and thus loss of catalytic activity (Lotti *et al.*, 2015, 2018; Norjannah *et al.*, 2016a; Rajendran *et al.*, 2022).

Given its toxicity and the fact that it is an alcohol derived from fossil sources such as oil and natural gas, methanol has been replaced by ethanol, which is less toxic and is obtained from renewable sources (Gumbyté *et al.*, 2018; Morin *et al.*, 2007; Ramos *et al.*, 2022; Véras *et al.*, 2011).

In the context of alternative and renewable raw materials, researchers have been looking for other sources of TG that can be used in enzymatic transesterification. Ariri coconut oil, which comes from a renewable source, is a viable alternative for this application.

Belonging to the species *Syagrus cocoides* Martius, the ariri is an oil palm that can also be known as pati, lous, jatá, piririma, pererema, iriri, pupunha-brava, cunham-galinha, uapirima etc., depending on where it is found (Celestino, 2009; Gomes-da-Silva *et al.*, 2022).

The ariri palm is native to the Amazon and the gallery forests of the cerrados located near the Amazon region. Its species is found in the Brazilian states of Amazonas, Pará, Tocantins, Maranhão, Piauí, Goiás and Mato Grosso. Ranging in height from 1.5 to 10 m, the ariri palm has a thin trunk and feathery leaves with well-spaced, narrow leaflets. Its ovoid or pyriform fruits measure up to 6 cm in length and have a yellowish-brown color when ripe (L. E. Andrade *et al.*, 2018; Celestino, 2009; Gomes-da-Silva *et al.*, 2022; Lisboa *et al.*, 2020; Lorenzi *et al.*, 2010; Noblick, 2017; Pinheiro *et al.*, 1996).

To date, ariri coconut oil has not been used in transesterification reactions. Thus, this paper presents a new route for obtaining esters from the transesterification of ariri coconut oil with ethanol using biocatalysts, using a process that is environmentally friendly and has a low reaction time. The molar ratio (oil/alcohol) and the load of the biocatalyst (*Burkholderia cepacia*) were evaluated during the process to analyze their influence on the ester content obtained.

MATERIAL AND METHODS

MATERIALS

Ariri oil was obtained from the coconut of the ariri palm tree by cold extraction via solvent (hexane) and used without any treatment. The coconut collection was conducted at the Dom Delgado University City, Federal University of Maranhão (UFMA), in São Luís -MA (2°33'22.6"S 44°18'29.2"W). Amano Lipase PS, from *Burkholderia cepacia* and Amano lipase PS-IM (immobilized on diatomite), were acquired from Merck e Sigma Brazil. The analytical-grade ethanol was purchased from Merck e Sigma Brazil.

Characterisation of ariri coconut oil

Physicochemical Characterization

The physicochemical properties of the oils were determined according to the Adolfo Lutz Institute, which analysed the acidity, saponification, and peroxide indexes, density, and viscosity (Institute Adolfo Lutz, 2008).

Chemical composition analysis

The chemical composition of ariri coconut oil was performed in a gas chromatograph (CG-2010) with Shimadzu Flame Ionization Detector (CG-FID), using a ZB-FFAP capillary column (30m x 0.25mm x 0.25 μ m). The flow of the carrier gas, helium, at a linear velocity of 47.5 cm/sec and column flow of 1.0 mL/min. The furnace programming was 120 °C for 2 min with a heating ramp from 10 °C/min to 180 °C and remained for 5 min, being heated again at a rate of 3 °C/min to 230 °C, remaining for up to 3 min. The injector and ion source temperatures were 250 °C and 200 °C, respectively. Split injection mode with 1/100 ratio. Race Time 32.67 min.

Infrared Spectroscopy

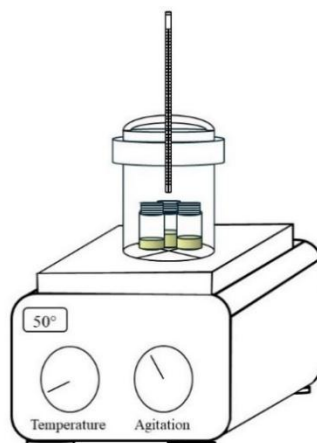
The samples de óleo de coco ariri were analyzed with a Fourier transform infrared spectrophotometer brand Shimadzu, model IRPrestige 21 and submitted to scanning analysis performed in the ranges of 4000-500 cm^{-1} with a resolution of 4 cm^{-1} and a number of scans of 40.

Experimental Procedure and Statistical Analysis

Reactions transesterification

Enzymatic transesterification occurred under magnetic stirring at 400 rpm, 50 °C, and 4 h duration. The mass of oil used in the reactions was 500 mg. The experimental procedure (**Figure 7.1**) consisted of a 10 mL glass bottle (headspace) with a screw-on cap, a cylindrical stainless steel chamber and a magnetic stirrer with heating. At the end of the process, to separate the biocatalyst and the ethyl esters, the reaction product was transferred to a falcon tube and centrifuged at 3600 rpm for 10 min. The quantification was carried out later through Gas Chromatography (GC-FID) and the identification of the esters by Gas Chromatography with Mass Spectrometer (GC-MS).

Figure 7.1 - Experimental system used in transesterification reactions.



Source: Authors (2024)

Design of Experiment

Based on the variables ethanol/oil molar ratio and catalytic load, a 32-factorial design (three levels and two variables) was performed for each lipase, totalling 9 experiments with the central points performed in triplicate. **Table 7.1** shows the factorial planning carried out.

Table 7.1 - Variables and work limits defined for the experimental routes.

Variables	Levels		
-	-1	0	+1
Ethanol/oil molar ratio	1:4	1:6	1:9
Catalytic Load (%)	2	5	10

Source: Authors (2024)

Statistical Analysis

The experimental data were analysed through analysis of variance (ANOVA) with a confidence level of 95%, with significant terms $p < 0.05$ and the optimisation of the synthesis of esters performed through the response surface analysis (MSR) methodology provided by the *Statistica* software.

Chromatographic analysis of esters

The analyses of the reaction products were conducted in a Shimadzu Gas Chromatograph with Mass Spectrometer (GCMS-QP2010 SE), using an RXi1MS capillary column (30m x 0.25mm x 0.25 μ m). The flow of the carrier gas, helium, at a

linear velocity of 37.5 cm/sec and column flow of 1.0 mL/min. The furnace programming was 120 °C for 2 min with a heating ramp from 10 °C/min to 180 °C and remained for 3 min, being heated again at a rate of 5 °C/min to 280 °C, remaining until 2 min. The injector and ion source temperatures were 250 °C and 200 °C, respectively. Split injection mode with a 1/50 ratio. Running time 33 min.

Esters were quantified according to Standard 14103-2011 (ANP), using methyl nonadecanoate (C-19 ester) and heptane as solvent as internal standard. The calculation of the percentage of esters in the samples was performed by using **Equation 7.1**:

$$\% \text{ esters} = \left(\frac{\sum A - API}{API} \times \frac{CPI \times VPI}{m} \right) \times 100 \quad (7.1)$$

Where:

$\sum A$ = Sum of the areas of the majority components and the internal standard;

API = Area of the internal standard (methyl nonadecanoate);

CPI = Concentration in mg/mL of methyl nonadecanoate;

VPI = Volume in mL of methyl nonadecanoate;

m = mass in grams of the sample.

RESULTS AND DISCUSSIONS

CHARACTERISATION OF ARIRI COCONUT OIL

Physicochemical Characterization

The results of the physicochemical analyses of ariri coconut oil and their comparison with other oils are illustrated in **Table 7.2**.

Table 7.2 - Physicochemical parameters of ariri coconut oil and other oils used in enzymatic transesterification reactions.

Parameters	Ariri (a)	Soybean (b)	Palm (c)	Jatropha (d)	Babassu (e)
Specific weight (g/cm ³)	0.902	0.87 - 0.93	0.89 - 0.91	0.86 - 0.91	0.91-0.92
Acid value (%)	1.97	0.2 - 0.97	0.6 - 4	2.24 - 5.6	0.15-1.24
Saponification index (mg KOH/g)	231.4	181 - 200	190 - 208	105 - 193	245-256
Iodine content (gI ₂ /100g)	20.4	119 - 139	47 - 56	63 - 100	10 - 18
Peroxide Index (mEg/Kg)	0.47	1.8 - 16.5	10 - 20	0.27 - 2.4	3.22 - 12.5
Viscosity (mm ² /s)	30.84	36.8 - 62.2	62.75 - 65.96	32	28.79 - 38.28

Organized by the authors (2024) **Source:** a - Authors (2024); b - (Anwar *et al.*, 2016; Gerde *et al.*, 2020; Nasreen *et al.*, 2015; Oliveira *et al.*, 2015; Pellicano *et al.*, 2008; Toscano e Maldini, 2007); c - (Koushki *et al.*, 2015; Lin, 2011; Pellicano *et al.*, 2008; Shahedi *et al.*, 2019; Toscano e Maldini, 2007); d - (Abdullah *et al.*, 2018; Ananias Ribeiro *et al.*, 2020; Fernandes *et al.*, 2015; Soares *et al.*, 2024; Yusop, 2013); e - (boulifi N El *et al.*, 2015; Kale e Ragit, 2017; Sales *et al.*, 2020; Silva Ferreira *et al.*, 2012).

When considering using vegetable oils in transesterification reactions, we must understand that the physicochemical characteristics depend almost entirely on the existing fatty acid profiles, directly impacting the efficiency of the transesterification process and the quality of the product obtained.

As evidenced by **Table 7.2**, ariri coconut oil has physicochemical characteristics within the typical ranges of vegetable oils, making it suitable for transesterification reactions.

Its acidity index of 1.97 indicates the need for a possible pre-treatment before transesterification. A high acidity index may interfere with the catalytic performance of lipases, reducing the formation of esters and interfering with the quality of the products (Jafarihaghighi *et al.*, 2020; Neupane *et al.*, 2021a; Yeşilyurt *et al.*, 2019).

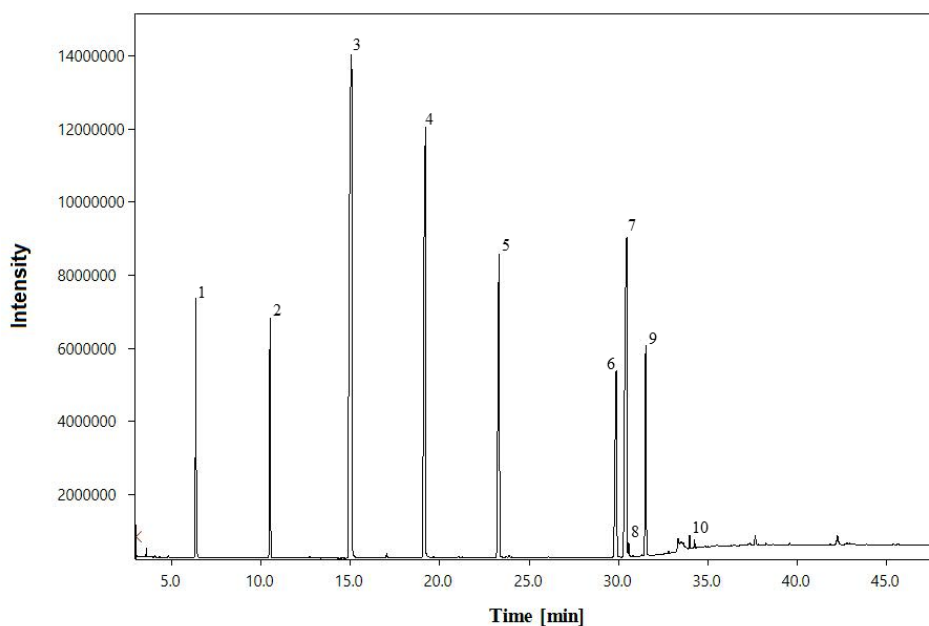
The high saponification index implies that short-chain fatty acids are in greater quantity. Its low levels of iodine and peroxides indicate that ariri coconut oil is composed mostly of saturated fatty acids (Barbosa *et al.*, 2009; Papin Sourou *et al.*, 2018).

Compared to other oils such as soybean, palm, jatropha, and babassu, ariri coconut oil has competitive characteristics, especially in oxidative stability caused by saturated fatty acids. However, its high acidity index becomes a disadvantage that needs to be managed (Kwiecien *et al.*, 2009; Moretto e Fett, 1989).

Therefore, because it has physicochemical characteristics within the typical ranges of vegetable oils, ariri coconut oil presents a viable alternative for enzymatic transesterification, especially if acidity-related issues are adequately addressed.

Chemical composition analysis

The free fatty acids in ariri coconut oil are shown in the total ion chromatogram, **Figure 7.2**, and their indications and percentages in **Table 7.3**.

Figure 7.2 - Chromatogram of free fatty acids in ariri coconut oil.

Source: Authors (2024)

The chromatogram of ariri coconut oil identified 10 fatty acids, most of which are chain-saturated. Lauric acid (C12:0), with a retention time of 15.02 min, was the majority, with 31.65%. In sequence, myristic acid (C14:0), oleic acid (C18:1n6c) and palmitic acid (C16:0) formed the highest fatty acid contents of ariri coconut oil with 17.96, 15.87 and 11.13%, respectively, as shown in **Table 7.3**.

Table 7.3 - Fatty acid composition in ariri coconut oil.

Peak	Acid	Formula	Name	Percentage (%)
1	C8:0	C ₈ H ₁₆ O ₂	Octanoic acid (Caprylic acid)	4.94
2	C10:0	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	Decanoic Acid (Capric Acid)	5.14
3	C12:0	C ₁₂ H ₂₄ O ₂	Dodecanoic Acid (Lauric Acid)	31.65
4	C14:0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	Tetradecanoic acid (Myristic acid)	17.96
5	C16:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	Hexadecanoic acid (Palmitic acid)	11.13
6	C18:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	Octadecanoic acid (Stearic acid)	7.49
7	C18:1n9c	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9-octadecenoic acid (Z) (oleic acid)	15.87
8	C18:1N9T	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	9-octadecenoic acid (E) (elaidic acid)	0.28
9	C18:2n6c	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	Linoleic acid	5.33
10	C20:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂	Eicosanic acid (Arachidic acid)	0.21
Total saturated acids				78.52
Total unsaturated acids				21.48

Source: Authors (2024)

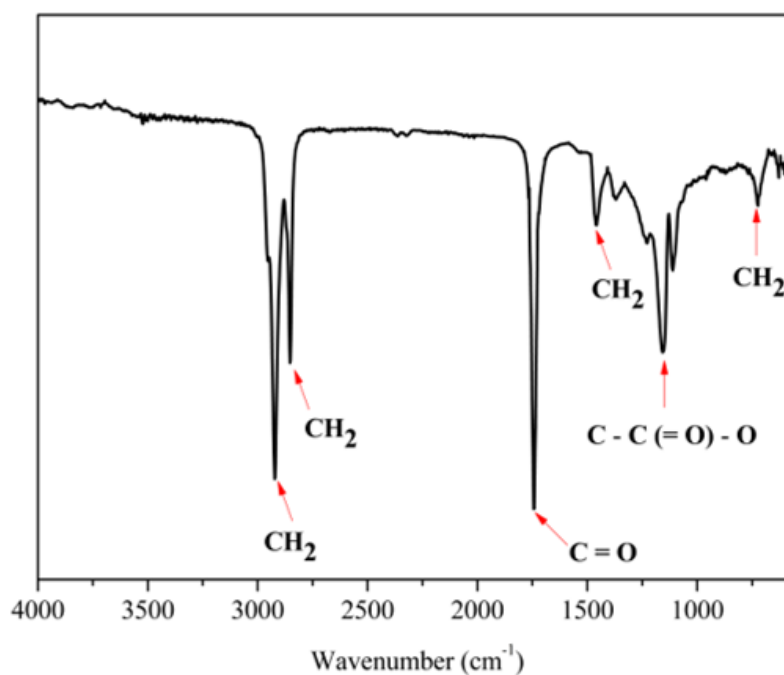
When comparing the composition of the fatty acids of ariri coconut oil with other oils used in transesterifications, such as Babassu oil, which has the greatest similarities in terms of the existing major fatty acids, mainly due to the high levels of lauric acids (Azam *et al.*, 2010; K. S. Moreira *et al.*, 2020a; Nascimento *et al.*, 2009; Neto *et al.*, 2021; Neupane *et al.*, 2021b).

The properties of oils and their products are directly linked to the profile of existing fatty acids. Oils with high levels of saturated fatty acids tend to be more viscous, making it difficult to mix and react with the alcohol and catalyst. Still, they produce biodiesel with greater oxidative stability (Bastos, 2020; Pinto *et al.*, 2005).

Infrared Spectroscopy

The spectrum obtained by infrared spectroscopy of ariri coconut oil is shown in **Figure 7.3**.

Figure 7.3 - Spectrum in the infrared region of ariri coconut oil.



Source: Authors (2024).

Analysing the spectrum, characteristics of the specific groups existing in ariri coconut oil can be observed. The methylene groups of the carbon chain of the esters are characterised by the absorption band related to the asymmetric stretching of CH₂ in the regions of 2920 cm⁻¹, followed by the absorption band at 2850 cm⁻¹, referring to the symmetrical stretching of CH₂, by the symmetrical strain band in the region 1462 cm⁻¹ and angular deformations at 720 cm⁻¹. Bands that relate to the characteristic functional groups of esters are located in the absorption

band 1741 cm^{-1} , referring to the stretching of the C=O group of the carboxyl group of esters and in 1161cm^{-1} referring to the deformation of the C – C(=O) – O group (Mukhametov *et al.*, 2023; Shi *et al.*, 2017; Silverstein *et al.*, 2014).

EXPERIMENTAL PROCEDURE AND STATISTICAL ANALYSIS

Transesterification reactions that use lipases as catalysts are carried out using different methodologies, so each researcher evaluates which parameters need to be verified. In this context, the complete factorial design 3^2 was used, with the following variables being the oil:ethanol ratio and the catalytic load. For each variable, three levels were considered: oil/ethanol ratios 1:4, 1:6, and 1:9, and catalytic loads of 2%, 5%, and 10%. The reaction time was kept constant at 4 h.

Table 7.4 presents the reaction conditions and the results obtained with their respective ester conversions.

Table 7.4 - Complete Experimental Design with the results for conversion into esters for enzymatic transesterification of ariri coconut oil.

3*2 Planning (Three levels and two variables)						
Reaction	Variable 1	Variable 2	Oil/ Ethanol	Catalytic Load	Ester contente (%)	
					<i>B. Cepacia</i> free	<i>B. Cepacia</i> Immobilized
1	0	1	1:6	10%	62.8	57.0
2	1	0	1:9	5%	31.2	55.5
3	-1	-1	1:4	2%	40.3	67.1
4	-1	0	1:4	5%	47.1	66.2
5	1	1	1:9	10%	57.5	53.7
6	0	-1	1:6	2%	50.5	41.4
7	1	-1	1:9	2%	38.7	35.2
8	-1	1	1:4	10%	58.2	60.9
9	0	0	1:6	5%	21.8	39.5
9	0	0	1:6	5%	23.0	36.4
9	0	0	1:6	5%	23.3	42.3

Source: Authors (2024)

According to **Table 7.4**, the results obtained from the experimental design show significant variations in the levels of esters obtained with values between 21.8 % and 67.1%.

Reaction 3, in which the immobilised lipase was used, produced the largest amount of esters from the molar ratio of 1:4 (oil/ethanol) and a catalytic load of 2%.

Effect of oil/alcohol ratio

The oil/ethanol ratio, 1:4, presented the best results on average for both the immobilised and free lipases. The molar ratio 1:9 showed variable results, suggesting that lower catalytic loads are not ideal for forming higher ester content.

Studies show that the oil/alcohol ratio significantly affects a transesterification reaction (Norjannah *et al.*, 2016b). The alcohol content above the stoichiometric amount (1 mol of triglyceride to 3 moles of alcohol) tends to improve yield to a certain point. After that, excess alcohol can remove the water wrapped around the lipase, denaturing it and consequently reducing its catalytic efficiency (Lam *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2017; Pedro *et al.*, 2017a; Salaheldeen *et al.*, 2021; Tongboriboon *et al.*, 2010).

It is worth noting that optimisations can occur in different molar ratios. Baron *et al.* (2014) achieved the best results with the oil/ethanol molar ratio of 1:3, while Mata *et al.* (2012) obtained a 1:6 ratio while Moreira *et al.* (2020) obtained the molar ratio of 1:18, that is, there is no oil/ethanol molar ratio that can guarantee a greater amount of esters, because this will depend on the type and form of the lipase, the catalytic content, the reaction time, among others (Baron *et al.*, 2014a; Mata *et al.*, 2012; K. S. Moreira *et al.*, 2020b).

Effect of catalytic load

The catalyst load directly influences the content of esters produced; the literature has shown that a higher catalyst load generally allows higher yields, but only up to a limit, beyond which inhibition by an excess of catalyst or particle agglomeration can occur, decreasing its efficiency (T. A. Andrade *et al.*, 2017a, 2017b; Arana-Peña *et al.*, 2020; Baron *et al.*, 2014b; K. S. Moreira *et al.*, 2020b; Pedro *et al.*, 2017a).

Data in **Table 7.4** indicate that the highest ester contents (67.1%) were achieved when using the immobilised lipase at a load of 2% and an oil/ethanol ratio of 1:4. The highest contents (62.8%) using the free lipase were obtained with a catalytic load of 10% and an oil/ethanol ratio of 1:6.

The immobilised lipase tends to be more efficient with a lower catalytic load and oil/alcohol ratio. The free lipase performs better with a higher catalytic load and an intermediate oil/alcohol ratio.

According to Mata *et al.* (2012), an excess of lipases will not necessarily lead to a higher conversion of esters. Still, on the other hand, a low lipase load may not be enough to achieve a higher conversion (Mata *et al.*, 2012).

The immobilised lipase generally presented superior or comparable results to the free lipase. Thus, it seems less sensitive to changes in the oil/ethanol ratio and catalytic load used.

The free lipase shows greater variability in the results with different conditions, indicating that free lipases are less resistant to environmental changes (Homaei *et al.*, 2013; Maghraby *et al.*, 2023).

Despite its initial inefficiency due to diffusion restrictions and interaction with the immobiliser support, lipase immobilisation is widely recognised for improving stability and reusability, enabling higher yields (Baena *et al.*, 2022; Dutra *et al.*, 2022; Kalita *et al.*, 2022; Lukovic *et al.*, 2011; Mandari e Devarai, 2022; Nouredдини *et al.*, 2005; Santos *et al.*, 2020; Shah *et al.*, 2004a; Thangaraj *et al.*, 2019).

The information above is consistent with the experimental data presented, which showed that the immobilised lipase had lower esters in some conditions but higher in others, depending on the specific experimental variables.

Catalytic efficiency and optimisation of reaction time

Enzymatic transesterification reactions need an adequate time to ensure the conversion of the triglycerides present in vegetable oil into esters; in general, these reactions are usually carried out for a long time.

The search for an optimised reaction time is necessary to avoid excessive energy and resource consumption. Reactions that last longer than necessary increase operating costs and may not bring additional benefits in terms of reactions.

Table 7.5 presents a comparative analysis of the maximum ester contents obtained from different reaction conditions in which lipase catalysts and ethanol were used.

Table 7.5 - Ester content obtained in enzymatic transesterification under different experimental conditions.

Time	Lipase	Oil	Catalytic Load	Oil/alcohol ratio	Ester content	Reference
1h	<i>B. cepacia</i>	Soy	1:15,2	4.75%	65%	(Noureddini <i>et al.</i> , 2005)
4h	<i>B.cepacia</i>	Ariri	1:4	2%	67%	This paper
4h	<i>Candida antarctica</i>	Soy	1:3	9%	73%	(Pedro <i>et al.</i> , 2017b)
4h	<i>Rhizomucor miehei</i>	Soy	1:3	9%	51.1%	(Pedro <i>et al.</i> , 2017b)
4h	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Soy	1:3	5%	50%	(Pedro <i>et al.</i> , 2017b)
6h	<i>B. cepacia</i>	Castor bean	1:3	4.5%	90%	(Baron <i>et al.</i> , 2014a)
8h	<i>Chromobacterium viscosum</i>	Jatropha	1:4	10%	71%	(Shah <i>et al.</i> , 2004b)
8h	<i>B. cepacia</i>	Jatropha	1:4	10%	98%	(Shah e Gupta, 2007)
12h	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Corn	1:6	2.8%	98.95%	(Mata <i>et al.</i> , 2012)
12h	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Palm	1:3	10%	>67%	(Tongboriboon <i>et al.</i> , 2010)
24h	<i>B. cepacia</i>	Jatropha	1:10	52%	~70%	(Abdulla e Ravindra, 2013)
24h	<i>Candida antarctica</i>	Soy	~1:50	5%	89%	(Rosset <i>et al.</i> , 2011)
24h	<i>Thermomyces lanuginosus</i>	Palm	1:4	20%	89.90%	(Raita <i>et al.</i> , 2010)
24h	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Palm	1:18	20%	~98%	(Moreira <i>et al.</i> , 2007)
30h	<i>B. cepacia</i>	Soy	1:5	83%	95.42%	(Ma <i>et al.</i> , 2017)

Organized by the authors (2024)

The results in table 5 reveal a diversity of esters produced, obtained from different combinations of oils and lipases under various experimental conditions.

Noureddini *et al.* (2005), using the lipase *B. cepacia* with soybean oil, reached a content of 65% in just 1 hour with an oil/alcohol ratio of 1:15.2 and a catalytic load of 4.75% (Noureddini *et al.*, 2005). However, Baron *et al.* (2014), using the same lipase now with castor oil, obtained a 90% ester after 6 h, with a similar catalytic load, demonstrating a significantly higher efficiency obtained with increased reaction time and with substrate change, even with a lower oil/alcohol ratio (Baron *et al.*, 2014b).

Comparing these results with those obtained by the present study, it is observed that the use of the lipase *B. cepacia* with ariri coconut oil presented the best result (67%) in a reaction time of 4 h. Being comparable to other studies in the same reaction time, such as the one by Pedro *et al.* (2017), which reached 73% using *Candida antarctica* with

soybean oil (Pedro *et al.*, 2017a). Despite a small reduction in the ester content obtained, this work used a significantly lower catalytic load (2%), indicating the high efficiency of the system used.

Other studies obtained results similar to this study. Shah *et al.* (2004) achieved a 71% content in the transesterification of palm oil with *Chromobacterium viscosum*, using an oil/alcohol ratio of 1:4 and a catalytic load of 10% in 8 h of reaction. This study employed a five-fold greater catalytic load and a two-fold longer reaction time to obtain a slightly higher result than the present work (Shah *et al.*, 2004b).

Tongboriboon *et al.* (2013) achieved 67% ester content by applying an oil/alcohol ratio of 1:3 and a catalytic load of 10% in the transesterification of jatropha with *Pseudomonas fluorescens* for 12 h. In this case, although the result is the same as in the present work, the reaction time was three times longer, and the catalytic load was five times higher (Tongboriboon *et al.*, 2010).

Abdulla e Ravindra (2013) maximized the production of esters by approximately 70% in the transesterification of jatropha oil with *B. cepacia*, using an oil/alcohol ratio of 1:10 and a catalytic load of 52% in 24 h. Comparing with the results of the present work, it is observed that, although slightly higher, the ester content was achieved in a reaction time six times higher and a catalytic load twenty-six times higher (Abdulla e Ravindra, 2013).

Although the other studies presented superior results to this study, they were obtained through a high catalytic load and a long reaction time.

Shah *et al.* (2007) achieved an ester content of 98% with a catalytic load of 10% in a reaction time of 8 h in the transesterification of jatropha with *B. cepacia* with an oil/alcohol ratio of 1:4 (Shah e Gupta, 2007). Mata *et al.* (2012) despite a reasonable catalytic load, needed 12 h to obtain 98.95% of esters in the transesterification of corn oil with *Thermomyces lanuginosus* in the oil/alcohol ratio of 1:6 (Mata *et al.*, 2012).

For a reaction time of 24 h, Rosset *et al.* (2011) investigated the transesterification of soybean oil using the lipase *Candida antarctica*, achieving an 89% ester with an oil/alcohol ratio of approximately 1:50 and a catalytic load of 5% (Rosset *et al.*, 2011). While Raita *et al.* (2010) achieved a 90% using a catalytic load of 20% and an oil/alcohol ratio of 1:4 in the transesterification of palm oil with the lipase *Thermomyces lanuginosus* (Raita *et al.*, 2010). Moreira *et al.* (2007) used *Pseudomonas fluorescens* to transesterify

palm oil, obtaining an approximate content of 98% esters, a 20% catalytic load, and an oil/alcohol ratio of 1:18 (A. B. R. Moreira *et al.*, 2007).

Finally, Ma *et al.* (2017) achieved an ester content of 95%, using an oil/alcohol ratio of 1:5 and a catalytic load of 83% in 30 h of reaction. Despite the excellent result, the high catalytic load required and the long reaction time represent significant challenges in terms of cost and operational feasibility for the study mentioned above (Ma *et al.*, 2017).

From the comparisons made in this topic, the present work stands out for the high efficiency of the catalytic system employed. This system achieves significant results in the ester content by combining a significantly lower catalytic load and a short reaction time.

Reducing the catalytic load reduces operating costs and environmental impact, making the process more sustainable and economically viable without compromising the result.

Statistical analysis

Tables 7.6 and **7.7** present the results of the Analysis of Variance (ANOVA) for the transesterification reactions for the free and immobilised lipases, respectively.

Table 7.6 - Analysis of variance (ANOVA) - B. *Cepacia* (Free).

Factors	Sum Quadratic	Degrees of Freedom	Average Quadratic	F	p
(1) Oil/ethanol L+Q	87.943	2	43.9714	0.569858	0.593487
(2) Catalytic load (%) L+Q	1527.469	2	763.7347	9.897810	0.012584
Error	462.972	6	77.16199		
Total	1411.642	10			
R ²	0.79672				
R ² Adjusted	0.6612				
MS Residual	77.16199				

Source: Authors (2024)

Table 7.7 - Analysis of variance (ANOVA) - B. *Cepacia* (Immobilized).

Factors	Sum Quadratic	Degrees of Freedom	Average Quadratic	F	p
(1) Oil/ethanol L+Q	828.743	2	414.3714	6.275101	0.033838
(2) Catalytic load (%) L+Q	133.116	2	66.5580	1.007933	0.419375
Error	396.205	6	66.0342		
Total	1411.642	10			
R ²	0.71933				
R ² Adjusted	0.53222				
MS Residual	66.03421				

Source: Authors (2024)

The data in **Table 7.6** show the p-value for the oil/ethanol ratio equal to 0.593487, which is higher than the common significance level (0.05). This indicates that the effect of the oil/ethanol ratio is not statistically significant at the level of 5% on the ester content, while the catalytic load, with a value of $p = 0.01258$, is statistically significant when the lipase in the free form is used.

On the other hand, when the immobilised lipase was used, the statistically significant effect at the 5% level was the oil/ethanol ratio with $p = 0.033838$, while the catalytic load with a value of $p = 0.419375$ is not statistically significant, as shown in **Table 7.7**.

It is noted, therefore, that the catalytic load directly affects the obtaining of the esters produced by the reaction catalysed with free lipase; on the other hand, the oil/ethanol ratio is the variable that most affects the reaction catalysed by the immobilised lipase, that is, at the same time that the amount of catalyst and the oil/ethanol ratio can substantially improve the content of esters produced, These same factors do not have significant effects within the levels studied.

Statistical analysis is not limited to verifying the influences caused by the variables but is complete in providing an idea of how well the model fits the data obtained.

The R^2 , also known as the coefficient of determination, is extremely useful in statistical modelling and regression analysis. It assesses how independent variables explain the changes in the dependent variable (Callegari-Jacques, 2003; Seber e Lee, 2003).

Models with a higher R^2 are generally preferred, as they indicate that a large part of the variability in the dependent variable can be explained by the independent variables in the model.

R^2 is used in conjunction with other metrics, such as adjusted R^2 , to ensure a complete assessment of the model's effectiveness. This provides a more accurate measure of the model's explanatory capacity, especially when comparing models with different numbers of variables (Seber e Lee, 2003).

The R^2 value for the free lipase shown in table 6 indicates that approximately 79.67% of the variability of the result can be explained by the variables studied, indicating that the model satisfactorily explains the variability of the esters obtained. The adjusted value of R^2 (0.6612) suggests that, when considering the complexity of the model, the explanation of variability is smaller but still considerable.

For the immobilised lipase (table 7), the R^2 value of 0.71933, although lower, can still be reasonably considered; however, the adjusted R^2 (0.53222) suggests that, when considering the complexity of the model (number of variables), the explained proportion of variability is smaller. This makes the model simplified without losing much explanatory capacity, focusing more on the variables that have a significant impact, such as the catalytic load (Montgomery *et al.*, 2012; Smith e Draper, 1998).

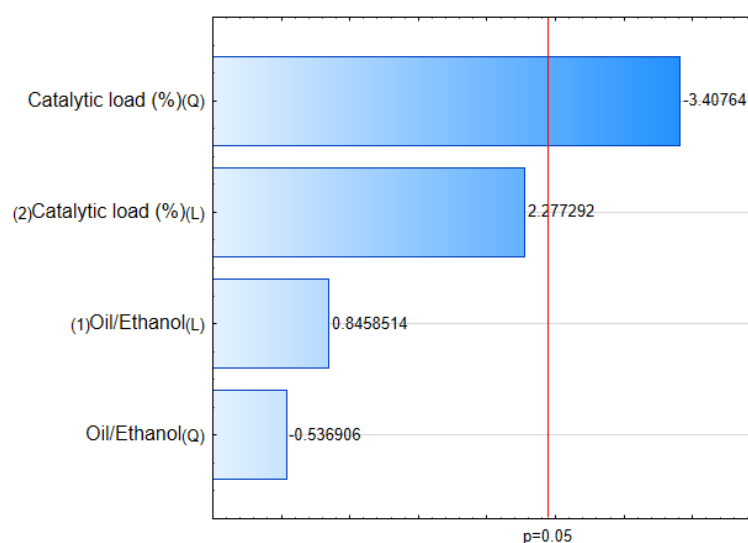
For both lipases, the adjusted R^2 is below the R^2 , indicating that one of the variables may not be contributing significantly and that the model fits very well to the results found but is ineffective in predicting new experimental results, which indicates the need to include more relevant variables, improve the quality of the data, or consider other types of models or data transformations (Montgomery *et al.*, 2012; Smith e Draper, 1998).

The effects caused by the oil/ethanol ratio and catalytic load variables are visually more observable through the Pareto graph, which provides a clearer visual representation of the data, identifying which independent variable will or will not produce an effect on the dependent variable.

On the Pareto chart, the vertical red line indicates which estimated effects are statistically significant ($p = 0.05$), and the variables that cross this line are considered statistically significant (Cavalcante *et al.*, 2010).

Figures 7.4 and 7.5 illustrate the Pareto diagrams for the transesterification reactions for the free and immobilised enzymes, respectively.

Figure 7.4 - Pareto plot for the effect of variables on the content of esters produced - *B. Cepacia* (Free).



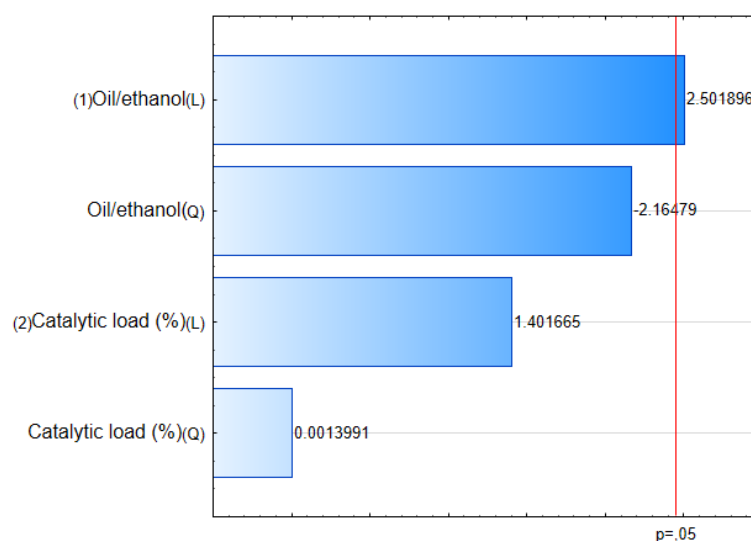
Source: Authors (2024)

The graph illustrated in **Figure 7.4** shows that, it can be seen that catalytic load (Q) is the most significant variable, but with a negative effect, suggesting that increasing the charge of the free lipase will significantly reduce the ester production (Hazrat *et al.*, 2023; Martinez-Silveira *et al.*, 2019).

Abdulla *et al.* (2013), in the ethanolic transesterification of the crude oil of *Jatropha curcas* L. using the lipase of immobilised *Burkholderia cepacia*, found that a reduction in the amount of esters is related to a higher catalytic load (Abdulla e Ravindra, 2013).

The ANOVA analysis (**Table 7.6**) shows that the oil/ethanol ratio does not significantly influence the ester content. Ramakrishnan *et al.* (2021) found that increasing the oil/ethanol molar ratio did not produce better results; in some cases, the ester content was reduced (Ramakrishnan *et al.*, 2021). Ma *et al.* (2017) also noted that a further increase in the oil/ethanol molar ratio reduced the amount of esters produced (Ma *et al.*, 2017).

Figure 7.5 - Pareto plot for the effect of variables on the content of esters produced - *B. Cepacia* (immobilised).



Source: Authors (2024)

For the reactions with the immobilised enzyme, The Pareto graph, plotted in **Figure 7.5**, indicates that the greatest effect is caused by the oil/ethanol (L) ratio; its positive effect indicates that, as the oil/ethanol ratio increases linearly, the content of esters produced will also increase significantly (Hazrat *et al.*, 2023).

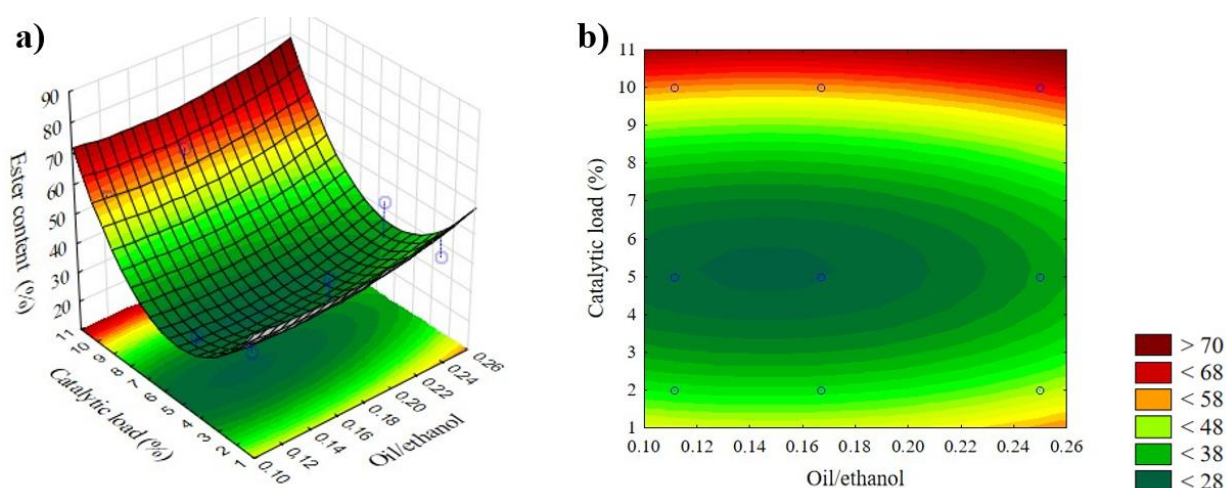
It is also observed that the enzyme load does not significantly influence the reaction. Some studies found that catalyst concentration did not significantly influence

the reaction results compared to the other process variables and that a higher enzyme load would not cause more significant results (Baron *et al.*, 2014b; Mansourpoor, 2012; Narwal e Gupta, 2013a; Santana *et al.*, 2016).

Response surface and contour plots can be used to perform Complementary Pareto and ANOVA chart analyses. These graphs are important tools in analysing and optimising transesterification reactions, identifying the influence of each variable and the interactions between them to locate the optimal points of each reaction.

Figures 7.6 and **7.7** show the response surface and contour graphs for the transesterification reactions used.

Figure 7.6 - Graph of response surface (a) and contour (b) in the content of esters produced - *B. Cepacia* (free).

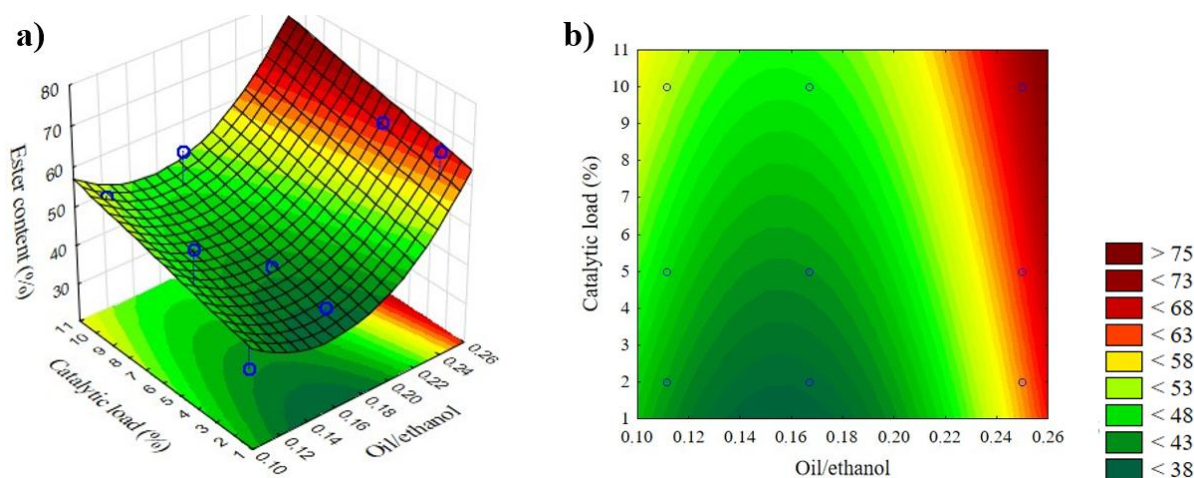


Source: Authors (2024)

Figure 7.6 demonstrates a clear transition region from low to high ester content, with the highest levels being achieved from a high enzyme load and for any oil/ethanol ratio used; in addition, the ester content does not vary linearly with the changes in the independent variables.

The contour curve also demonstrates a complex interaction between the independent variables, suggesting that even small changes in the variables can significantly impact the reaction medium.

Figure 7.7 - Graph of response surface (a) and contour (b) in the content of esters produced - *B. Cepacia* (immobilised).



Source: Authors (2024)

The graphs in **Figure 7.7** indicate that the best results are initially achieved with increased catalytic load. However, this effect decreases as the catalytic load increases, so it no longer significantly influences the ester content, especially near the oil/ethanol ratio of 1:6.

Both graphs corroborate that the oil/ethanol ratio increase significantly impacts ester production, especially when combined with a high catalytic load, indicating a clear interaction between these variables.

When comparing the lipases, it is verified that free enzymes present intermediate results in most combinations of variables. At the same time, the immobilised enzyme presents a greater variation in the content of esters produced with the changes in its variables.

Thus, lipase immobilisation seems to significantly alter how enzyme load and oil/ethanol ratio influence the outcome, providing better enzyme stability or reactivity under different conditions and allowing for a greater amount of esters in a wider range of variables.

CONCLUSIONS

This study demonstrated the use of *B. cepacia* lipase in the enzymatic transesterification of ariri coconut oil with ethanol, aiming at the sustainable production of esters;

Compared to other oils such as soybean, palm, jatropha, and babassu, ariri coconut oil has competitive characteristics, especially due to its oxidative stability, which is provided by most saturated fatty acids. However, the high acidity value represents a disadvantage that must be managed properly

The reactions indicated that lower oil/ethanol ratios and intermediate catalytic loads are more efficient, especially with the use of immobilised lipase;

The immobilised lipase proved to be more advantageous compared to the free enzyme, offering greater stability and reactivity under different conditions;

The choice of optimal conditions should consider the type of lipase used and the specific objectives of the process;

The ariri coconut oil used without treatment and solvent-free system was shown to be economically advantageous and environmentally friendly, eliminating the need for solvent recovery and recycling;

The ester content produced in a reduced reaction time and a low catalytic load underscore the potential of using enzymatic transesterification of ariri coconut oil with ethanol. This process represents an innovation since it was reported for the first time, establishing a promising basis for future studies and potential industrial applications.

REFERENCES

- Abdulla, R. Ravindra, P. (2013). Immobilized Burkholderia cepacia lipase for biodiesel production from crude Jatropha curcas L. oil. *Biomass and Bioenergy*, 56, 8–13. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2013.04.010>
- Abdullah, B. M., Yusop, R. M., Salimon, J., Yousif, E. Salih, N. (2018). *Physical and Chemical Properties Analysis of Jatropha curcas Seed Oil for Industrial Applications*. Zenodo. <https://doi.org/10.5281/zenodo.1089132>
- Ananias Ribeiro, R., Mota Nobre Queiroz, M. das G., Alves, V. L., Rocha Bernardino de Almeida Prata, E. Soares Barbosa, É. (2020). CHEMICAL CHARACTERIZATION OF JATROPHA OIL STORED OVER A PERIOD OF TIME AND ANALYSIS OF ITS PRESSED CAKE. *Revista Unimontes Científica*, 15(2), 08–14. <https://www.periodicos.unimontes.br/index.php/unicientifica/article/view/2019>
- Andrade, L. E., Forzza, R. C., Silva, G. Z. da Filardi, F. L. R. (2018). Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia*, 69(4), 1513–1527. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>

- Andrade, T. A., Errico, M. Christensen, K. V. (2017a). Influence of the reaction conditions on the enzyme catalyzed transesterification of castor oil: A possible step in biodiesel production. *Bioresource Technology*, 243, 366–374.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.118>
- Andrade, T. A., Errico, M. Christensen, K. V. (2017b). Influence of the reaction conditions on the enzyme catalyzed transesterification of castor oil: A possible step in biodiesel production. *Bioresource Technology*, 243, 366–374.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.06.118>
- Andrade, T. A., Martín, M., Errico, M. Christensen, K. V. (2019). Biodiesel production catalyzed by liquid and immobilized enzymes: Optimization and economic analysis. *Chemical Engineering Research and Design*, 141, 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.cherd.2018.10.026>
- Anwar, F., Kamal, G. M., Nadeem, F. Shabir, G. (2016). Variations of quality characteristics among oils of different soybean varieties. *Journal of King Saud University - Science*, 28(4), 332–338. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2015.10.001>
- Arana-Peña, S., Rios, N. S., Carballares, D., Mendez-Sanchez, C., Lokha, Y., Gonçalves, L. R. B. Fernandez-Lafuente, R. (2020). Effects of Enzyme Loading and Immobilization Conditions on the Catalytic Features of Lipase From *Pseudomonas fluorescens* Immobilized on Octyl-Agarose Beads. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8.
<https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00036>
- Azam, M. M., Waris, A. Nahar, N. M. (2010). Suitability of Some Wildly Grown Seed Oils for Use as Biodiesel. *Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects*, 32(7), 657–664. <https://doi.org/10.1080/15567030802606087>
- Baena, A., Orjuela, A., Rakshit, S. K. Clark, J. H. (2022). Enzymatic hydrolysis of waste fats, oils and greases (FOGs): Status, prospective, and process intensification alternatives. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 175, 108930.
<https://doi.org/10.1016/j.cep.2022.108930>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N. Mehrotra, R. (2010). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Barbosa, B. S., Koolen, H. H. F., Barreto, A. C., Silva, J. D. da, Figliuolo, R. Nunomura, S. M. (2009). Aproveitamento do Óleo das Amêndoas de Tucumã do Amazonas na Produção de Biodiesel. *Acta Amazonica*, 39(2), 371–376. <https://doi.org/10.1590/S0044-59672009000200015>

- Baron, A. M., Barouh, N., Barea, B., Villeneuve, P., Mitchell, D. A. Krieger, N. (2014a). Transesterification of castor oil in a solvent-free medium using the lipase from *Burkholderia cepacia* LTEB11 immobilized on a hydrophobic support. *Fuel*, 117, 458–462. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.09.065>
- Baron, A. M., Barouh, N., Barea, B., Villeneuve, P., Mitchell, D. A. Krieger, N. (2014b). Transesterification of castor oil in a solvent-free medium using the lipase from *Burkholderia cepacia* LTEB11 immobilized on a hydrophobic support. *Fuel*, 117, 458–462. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2013.09.065>
- Baskar, G., Aiswarya, R., Soumiya, S., Mohanapriya, N. Roselin Nivetha, S. (2017). Recent Advances in Heterogeneous Catalysts for Biodiesel Production. *Journal of Energy and Environmental Sustainability*, 4, 1–5. <https://doi.org/10.47469/JEES.2017.v04.100038>
- Bastos, F. C. (2020). *Obtenção e fracionamento de ésteres metílicos de ácidos graxos a partir do óleo de coco ariri (Syagrus cocoides martius)* [Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química)]. Universidade Federal do Maranhão.
- boulifi N El, Bouaid, A., Martínez, M. Aracil, J. (2015). Biodiesel Production from Babassu Oil: A Statistical Approach. *Journal of Chemical Engineering e Process Technology*, 06(03). <https://doi.org/10.4172/2157-7048.1000232>
- Callegari-Jacques, S. M. (2003). *Bioestatística: Princípios e Aplicações* (1st ed.). Artmed.
- Cavalcante, K. S. B., Penha, M. N. C., Mendonça, K. K. M., Louzeiro, H. C., Vasconcelos, A. C. S., Maciel, A. P., de Souza, A. G. Silva, F. C. (2010). Optimization of transesterification of castor oil with ethanol using a central composite rotatable design (CCRD). *Fuel*, 89(5), 1172–1176. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2009.10.029>
- Celestino, P. (2009). *Oleaginosas da Amazônia* (2nd ed.). Ministério do Desenvolvimento Agrário.
- Dutra, L. da S., Costa Cerqueira Pinto, M., Cipolatti, E. P., Aguiaras, E. C. G., Manoel, E. A., Greco-Duarte, J., Guimarães Freire, D. M. Pinto, J. C. (2022). How the biodiesel from immobilized enzymes production is going on: An advanced bibliometric evaluation of global research. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 153, 111765. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.111765>
- Fernandes, A. M. A. P., El-Khatib, S., Cunha, I. B. S., Porcari, A. M., Eberlin, M. N., Silva, M. J., Silva, P. R., Cunha, V. S., Daroda, R. J. Alberici, R. M. (2015). Chemical Characterization of *Jatropha curcas* L. Seed Oil and Its Biodiesel by Ambient

- Desorption/Ionization Mass Spectrometry. *Energy e Fuels*, 29(5), 3096–3103.
<https://doi.org/10.1021/ef5023785>
- Fjerbaek, L., Christensen, K. V. Norddahl, B. (2009). A review of the current state of biodiesel production using enzymatic transesterification. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(5), 1298–1315. <https://doi.org/10.1002/BIT.22256>
- Gerde, J. A., Hammond, E. G., Johnson, L. A., Su, C., Wang, T. White, P. J. (2020). Soybean Oil. In *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (pp. 1–68). Wiley.
<https://doi.org/10.1002/047167849X.bio041.pub2>
- Gomes-da-Silva, J., Filardi, F. L. R., Barbosa, M. R. V., Baumgratz, J. F. A., Bicudo, C. E. M., Cavalcanti, T. B., Coelho, M. A. N., Costa, A. F., Costa, D. P., Dalcin, E. C., Labiak, P., Lima, H. C., Lohmann, L. G., Maia, L. C., Mansano, V. F., Menezes, M., Morim, M. P., Moura, C. W. N., Lughadha, E. N., ... Zuntini, A. R. (2022). Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. *TAXON*, 71(1), 178–198.
<https://doi.org/10.1002/tax.12640>
- Guldhe, A., Singh, P., Ansari, F. A., Singh, B. Bux, F. (2017). Biodiesel synthesis from microalgal lipids using tungstated zirconia as a heterogeneous acid catalyst and its comparison with homogeneous acid and enzyme catalysts. *Fuel*, 187, 180–188.
<https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.053>
- Gumbyte, M., Makareviciene, V., Skorupskaite, V., Sendzikiene, E. Kondratavicius, M. (2018). Enzymatic microalgae oil transesterification with ethanol in mineral diesel fuel media. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*, 10(1). <https://doi.org/10.1063/1.5012939>
- Hazrat, M. A., Rasul, M. G., Khan, M. M. K., Ashwath, N., Fattah, I. M. R., Ong, H. C. Mahlia, T. M. I. (2023). Biodiesel production from transesterification of Australian Brassica napus L. oil: optimisation and reaction kinetic model development. *Environment, Development and Sustainability*, 25(11), 12247–12272. <https://doi.org/10.1007/s10668-022-02506-0>
- Homaei, A. A., Sariri, R., Vianello, F. Stevanato, R. (2013). Enzyme immobilization: an update. *Journal of Chemical Biology*, 6(4), 185–205. <https://doi.org/10.1007/s12154-013-0102-9>
- Institute Adolfo Lutz. (2008). *Methods for Chemical and Physical Analysis of Food* (4th ed.). Analytical Standards of the Institute Adolfo Lutz.
- Jaeger, K.-E. Eggert, T. (2002a). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00341-5)

- Jaeger, K.-E. Eggert, T. (2002b). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00341-5)
- Jafarihaghighi, F., Ardjmand, M., Salar Hassani, M., Mirzajanzadeh, M. Bahrami, H. (2020). Effect of Fatty Acid Profiles and Molecular Structures of Nine New Source of Biodiesel on Combustion and Emission. *ACS Omega*, 5(26), 16053–16063. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01526>
- Kale, P. Ragit, S. (2017). *Optimization of Babassu (Orbignya sp) biodiesel Production from babassu oil by Taguchi Technique and Fuel Characterization*. 11, 35–50.
- Kalita, P., Basumatary, B., Saikia, P., Das, B. Basumatary, S. (2022). Biodiesel as renewable biofuel produced via enzyme-based catalyzed transesterification. *Energy Nexus*, 6, 100087. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100087>
- Kim, H. J., Hillmyer, M. A. Ellison, C. J. (2021). Enhanced Polyester Degradation through Transesterification with Salicylates. *Journal of the American Chemical Society*, 143(38), 15784–15790. <https://doi.org/10.1021/jacs.1c07229>
- Koushki, M., Nahidi, M. Cheraghali, F. (2015). Physico-chemical properties, fatty acid profile and nutrition in palm oil. *Archives of Advances in Biosciences*, 6(3), 117–134. <https://doi.org/https://doi.org/10.22037/jps.v6i3.9772>
- Kumar, A., Singh, V. P. Srivastava, A. (2022). Quality biodiesel via biotransesterification from inedible renewable sources. *Journal of Cleaner Production*, 379, 134653. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.134653>
- Kwiecien, J., Hájek, M. Skopal, F. (2009). The effect of the acidity of rapeseed oil on its transesterification. *Bioresource Technology*, 100(23), 5555–5559. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2009.06.002>
- Lam, M. K., Lee, K. T. Mohamed, A. R. (2010). Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. *Biotechnology Advances*, 28(4), 500–518. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.03.002>
- Leung, W. H., Leitao, E. M. Verbeek, C. J. R. (2023). Copolymerization of polyethylene terephthalate and polycaprolactone using catalytic transesterification. *Polymer*, 284, 126297. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2023.126297>
- Lin, S. W. (2011). Palm Oil. In *Vegetable Oils in Food Technology* (pp. 25–58). Wiley. <https://doi.org/10.1002/9781444339925.ch2>

- Lisboa, M. C., Wiltshire, F. M. S., Fricks, A. T., Dariva, C., Carrière, F., Lima, Á. S. Soares, C. M. F. (2020). Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plants. *Biochimie*, 178, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.002>
- Lorenzi, H., Kahn, F., Noblick, L. R. Ferreira, E. (2010). *Flora Brasileira - Arecaceae (Palmeiras)* (1st ed.). Instituto Plantarum.
- Lotti, M., Pleiss, J., Valero, F. Ferrer, P. (2015). Effects of methanol on lipases: Molecular, kinetic and process issues in the production of biodiesel. *Biotechnology Journal*, 10(1), 22–30. <https://doi.org/10.1002/biot.201400158>
- Lotti, M., Pleiss, J., Valero, F. Ferrer, P. (2018). Enzymatic Production of Biodiesel: Strategies to Overcome Methanol Inactivation. *Biotechnology Journal*, 13(5). <https://doi.org/10.1002/biot.201700155>
- Lukovic, N., Kneevic-Jugovic, Z. Bezbradic, D. (2011). Biodiesel Fuel Production by Enzymatic Transesterification of Oils: Recent Trends, Challenges and Future Perspectives. In *Alternative Fuel*. InTech. <https://doi.org/10.5772/21905>
- Luna, C., Luna, D., Calero, J., Bautista, F. M., Romero, A. A., Posadillo, A. Verdugo-Escamilla, C. (2016). Biochemical catalytic production of biodiesel. In *Handbook of Biofuels Production* (pp. 165–199). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00007-2>
- Ma, L., Zhou, L., Jiang, Y., He, Y., Wang, L. Gao, J. (2017). Lipase based static emulsions as efficient biocatalysts for biodiesel production. *Journal of Chemical Technology e Biotechnology*, 92(6), 1248–1255. <https://doi.org/10.1002/jctb.5118>
- Maghraby, Y. R., El-Shabasy, R. M., Ibrahim, A. H. Azzazy, H. M. E.-S. (2023). Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS Omega*, 8(6), 5184–5196. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>
- Mandari, V. Devarai, S. K. (2022). Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a Critical Review. *BioEnergy Research*, 15(2), 935–961. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w>
- Mansourpoor, M. (2012). Optimization of Biodiesel Production from Sunflower Oil Using Response Surface Methodology. *Journal of Chemical Engineering e Process Technology*, 03(05). <https://doi.org/10.4172/2157-7048.1000141>
- Martinez-Silveira, A., Villarreal, R., Garmendia, G., Rufo, C. Vero, S. (2019). Process conditions for a rapid in situ transesterification for biodiesel production from oleaginous

yeasts. *Electronic Journal of Biotechnology*, 38, 1–9.

<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2018.11.006>

Mata, T. M., Sousa, I. R. B. G., Vieira, S. S. Caetano, N. S. (2012). Biodiesel Production from Corn Oil via Enzymatic Catalysis with Ethanol. *Energy e Fuels*, 26(5), 3034–3041.

<https://doi.org/10.1021/ef300319f>

McDonald, A. G. Tipton, K. F. (2023). Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. *The FEBS Journal*, 290(9), 2214–2231. <https://doi.org/10.1111/febs.16274>

Montgomery, D. C., Peck, E. A. Vining, G. G. (2012). *Introduction to Linear Regression Analysis* (5th ed.). John Wiley e Sons Inc.

Morales, G., Iglesias, J. Melero, J. A. (2020). Sustainable Catalytic Conversion of Biomass for the Production of Biofuels and Bioproducts. *Catalysts*, 10(5), 581.

<https://doi.org/10.3390/catal10050581>

Moreira, A. B. R., Perez, V. H., Zanin, G. M. de Castro, H. F. (2007). Biodiesel Synthesis by Enzymatic Transesterification of Palm Oil with Ethanol Using Lipases from Several Sources Immobilized on Silica–PVA Composite. *Energy e Fuels*, 21(6), 3689–3694.

<https://doi.org/10.1021/ef700399b>

Moreira, K. S., Moura Júnior, L. S., Monteiro, R. R. C., de Oliveira, A. L. B., Valle, C. P., Freire, T. M., Fachine, P. B. A., de Souza, M. C. M., Fernandez-Lorente, G., Guisan, J. M. dos Santos, J. C. S. (2020a). Optimization of the Production of Enzymatic Biodiesel from Residual Babassu Oil (*Orbignya* sp.) via RSM. *Catalysts*, 10(4), 414.

<https://doi.org/10.3390/catal10040414>

Moreira, K. S., Moura Júnior, L. S., Monteiro, R. R. C., de Oliveira, A. L. B., Valle, C. P., Freire, T. M., Fachine, P. B. A., de Souza, M. C. M., Fernandez-Lorente, G., Guisan, J. M. dos Santos, J. C. S. (2020b). Optimization of the Production of Enzymatic Biodiesel from Residual Babassu Oil (*Orbignya* sp.) via RSM. *Catalysts*, 10(4), 414.

<https://doi.org/10.3390/catal10040414>

Moretto, E. Fett, R. (1989). *Óleos e gorduras vegetais processamento e analises* (2nd ed.). UFSC.

Morin, P., Hamad, B., Sapaly, G., Carneiro Rocha, M. G., Pries de Oliveira, P. G., Gonzalez, W. A., Andrade Sales, E. Essayem, N. (2007). Transesterification of rapeseed oil with ethanolII. Catalysis with homogeneous Keggin heteropolyacids. *Applied Catalysis A: General*, 330, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2007.07.011>

- Mukhametov, A., Mamayeva, L., Kazhymurat, A., Akhlan, T. Yerbulekova, M. (2023). Study of vegetable oils and their blends using infrared reflectance spectroscopy and refractometry. *Food Chemistry: X*, 17, 100386. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2022.100386>
- Mumtaz, M. W., Adnan, A., Mukhtar, H., Rashid, U. Danish, M. (2017). Biodiesel Production Through Chemical and Biochemical Transesterification. In *Clean Energy for Sustainable Development* (pp. 465–485). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805423-9.00015-6>
- Narwal, S. K. Gupta, R. (2013a). Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. *Biotechnology Letters*, 35(4), 479–490. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1116-z>
- Narwal, S. K. Gupta, R. (2013b). Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. *Biotechnology Letters*, 35(4), 479–490. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1116-z>
- Nascimento, U. M., Vasconcelos, A. C. S., Azevedo, E. B. Silva, F. C. (2009). Otimização da produção de biodiesel a partir de óleo de coco babaçu com aquecimento por microondas. *Eclética Química*, 34(4), 37–48. <https://doi.org/10.1590/S0100-46702009000400004>
- Nasreen, S., Liu, H., Khan, R., Zhu, X. Skala, D. (2015). Transesterification of soybean oil catalyzed by Sr-doped cinder. *Energy Conversion and Management*, 95, 272–280. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2015.02.006>
- Nelson, L. A., Foglia, T. A. Marmer, W. N. (1996). Lipase-catalyzed production of biodiesel. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 73(9), 1191–1195. <https://doi.org/10.1007/BF02523383>
- Neto, J. F. da S., Silva Machado, J., Mendes, F., Rios, M. A. de S., Assunção, J. C. da C., Maia da Silva, F. F., Mathias Macêdo, A. A. Volken de Souza, C. F. (2021). Aceite de coco babasú (*Orbignya speciosa* Mart.) extraído industrialmente y manualmente como materia prima para la producción de biodiésel. *Revista ION*, 34(2). <https://doi.org/10.18273/revion.v34n2-2021009>
- Neupane, D., Bhattarai, D., Ahmed, Z., Das, B., Pandey, S., Solomon, J. K. Q., Qin, R. Adhikari, P. (2021a). Growing *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) as a Potential Second-Generation Biodiesel Feedstock. *Inventions*, 6(4), 60. <https://doi.org/10.3390/inventions6040060>
- Neupane, D., Bhattarai, D., Ahmed, Z., Das, B., Pandey, S., Solomon, J. K. Q., Qin, R. Adhikari, P. (2021b). Growing *Jatropha* (*Jatropha curcas* L.) as a Potential Second-Generation Biodiesel Feedstock. *Inventions*, 6(4), 60. <https://doi.org/10.3390/inventions6040060>

- Ng, H. S., Kee, P. E., Yim, H. S., Chen, P.-T., Wei, Y.-H. Chi-Wei Lan, J. (2020). Recent advances on the sustainable approaches for conversion and reutilization of food wastes to valuable bioproducts. *Bioresource Technology*, 302, 122889. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122889>
- Nie, J., Shen, J., Shim, Y. Y., Tse, T. J. Reaney, M. J. T. (2020). Synthesis of Trimethylolpropane Esters by Base-Catalyzed Transesterification. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 122(3). <https://doi.org/10.1002/ejlt.201900207>
- Noblick, L. R. (2017). A revision of the genus *Syagrus* (Arecaceae). *Phytotaxa*, 294(1), 1. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.294.1.1>
- Norjannah, B., Ong, H. C., Masjuki, H. H., Juan, J. C. Chong, W. T. (2016a). Enzymatic transesterification for biodiesel production: a comprehensive review. *RSC Advances*, 6(65), 60034–60055. <https://doi.org/10.1039/C6RA08062F>
- Norjannah, B., Ong, H. C., Masjuki, H. H., Juan, J. C. Chong, W. T. (2016b). Enzymatic transesterification for biodiesel production: a comprehensive review. *RSC Advances*, 6(65), 60034–60055. <https://doi.org/10.1039/C6RA08062F>
- Noureddini, H., Gao, X. Philkana, R. S. (2005). Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil. *Bioresource Technology*, 96(7), 769–777. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2004.05.029>
- Oliveira, E. V. A., Costa, L. C., Thomaz, D. M., Costa, M. A. S. Maria, L. C. S. (2015). Transesterification of Soybean Oil to Biodiesel by Anionic and Cationic Ion Exchange Resins. *Revista Virtual de Química*, 7(6), 2314–2333. <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20150138>
- Orege, J. I., Oderinde, O., Kifle, G. A., Ibikunle, A. A., Raheem, S. A., Ejeromedoghene, O., Okeke, E. S., Olukowi, O. M., Orege, O. B., Fagbohun, E. O., Ogundipe, T. O., Avor, E. P., Ajayi, O. O. Daramola, M. O. (2022). Recent advances in heterogeneous catalysis for green biodiesel production by transesterification. *Energy Conversion and Management*, 258, 115406. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115406>
- Papin Sourou, M., Tchiakpe, L., Guevara, N., Théomaine, F., BOTHON, F., Sidohounde, A., Pascal, C., Agbangnan D., C. P., Bessieres, D., Chrostowska, A., Codjo, D. Sohounhloue, K. (2018). *Journal of Petroleum Technology and Alternative Fuels Fatty acid profile and quality parameters of Ceiba pentandra (L.) seed oil: A potential source of biodiesel*. 14–19. <https://doi.org/10.5897/JPTAF2018.0141>

- Pedro, K., Parreira, J., Correia, I., Henriques, C. Langone, M. (2017a). ENZYMATIC BIODIESEL SYNTHESIS FROM ACID OIL USING A LIPASE MIXTURE. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170180>
- Pedro, K., Parreira, J., Correia, I., Henriques, C. Langone, M. (2017b). ENZYMATIC BIODIESEL SYNTHESIS FROM ACID OIL USING A LIPASE MIXTURE. *Química Nova*. <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170180>
- Pellicano, M., Cammarota, G., Graziani, M. Aparicio, R. (2008). *THE SCIENTIFIC HANDBOOK. Mapping And Comparing Oils. “Sixth Framework Programme of the European Community” - Priority 5. Pag. 199-244, Sensory properties and consumers acceptability of oils.*
- Pinheiro, C. U. B., Balick, M. J. Frazao, J. M. F. (1996). Branching in *Syagrus cocoides* (Arecaceae) in Maranhao, Northeastern Brazil. *Brittonia*, 48(4), 556. <https://doi.org/10.2307/2807876>
- Pinto, A. C., Guarieiro, L. L. N., Rezende, M. J. C., Ribeiro, N. M., Torres, E. A., Lopes, W. A., Pereira, P. A. de P. Andrade, J. B. de. (2005). Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6b), 1313–1330. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000800003>
- Porto de Souza Vandenberghe, L., Karp, S. G., Binder Pagnoncelli, M. G., von Linsingen Tavares, M., Libardi Junior, N., Valladares Diestra, K., Viesser, J. A. Soccol, C. R. (2020). Classification of enzymes and catalytic properties. In *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (pp. 11–30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819820-9.00002-8>
- Raita, M., Champreda, V. Laosiripojana, N. (2010). Biocatalytic ethanolysis of palm oil for biodiesel production using microcrystalline lipase in tert-butanol system. *Process Biochemistry*, 45(6), 829–834. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.02.002>
- Rajendran, N., Pandey, A., Gnansounou, E., Gurunathan, B. Han, J. (2022). Techno-economic analysis of biodiesel production from nonedible biooil using catalytic transesterification. In *Biofuels and Bioenergy* (pp. 601–626). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90040-9.00003-5>
- Ramakrishnan, V. V., Dave, D., Liu, Y., Routray, W. Murphy, W. (2021). Statistical Optimization of Biodiesel Production from Salmon Oil via Enzymatic Transesterification: Investigation of the Effects of Various Operational Parameters. *Processes*, 9(4), 700. <https://doi.org/10.3390/pr9040700>

- Ramos, M. D. N., Milessi, T. S., Candido, R. G., Mendes, A. A. Aguiar, A. (2022). Enzymatic catalysis as a tool in biofuels production in Brazil: Current status and perspectives. *Energy for Sustainable Development*, 68, 103–119. <https://doi.org/10.1016/j.esd.2022.03.007>
- Rao, Gullapalli. B. D., Anjaneyulu, B., Kaushik, Mahabir. P. Prasad, Mailavaram. R. (2021). β -Ketoesters: An Overview and It's Applications via Transesterification. *ChemistrySelect*, 6(40), 11060–11075. <https://doi.org/10.1002/slct.202102949>
- Remonato, D., Miotti Jr., R. H., Monti, R., Bassan, J. C. de Paula, A. V. (2022). Applications of immobilized lipases in enzymatic reactors: A review. *Process Biochemistry*, 114, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.01.004>
- Rezende, M., de Lima, A. L., Silva, B., Mota, C., Torres, E., da Rocha, G., Cardozo, I., Costa, K., Guarieiro, L., Pereira, P., Martinez, S. de Andrade, J. (2021). Biodiesel: An Overview II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210046>
- Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Mofijur, M., Silitonga, A. S., Rahman, S. M. A. Ahmad, A. (2020). State of the Art of Catalysts for Biodiesel Production. *Frontiers in Energy Research*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00101>
- Rosset, I. G., Tavares, M. C. H., Assaf, E. M. Porto, A. L. M. (2011). Catalytic ethanolysis of soybean oil with immobilized lipase from *Candida antarctica* and ^1H NMR and GC quantification of the ethyl esters (biodiesel) produced. *Applied Catalysis A: General*, 392(1–2), 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2010.10.035>
- Salaheldeen, M., Mariod, A. A., Aroua, M. K., Rahman, S. M. A., Soudagar, M. E. M. Fattah, I. M. R. (2021). Current State and Perspectives on Transesterification of Triglycerides for Biodiesel Production. *Catalysts*, 11(9), 1121. <https://doi.org/10.3390/catal11091121>
- Sales, A. R. R., Albuquerque, T. da N., Xavier, L. E., Santana, A. G., Silva, O. S., Costa, S. dos S., Fonseca, S. B. Meireles, B. R. L. de A. (2020). Caracterização físico-química do óleo de coco babaçu industrial e artesanal e suas aplicações tecnológicas. *Brazilian Journal of Development*, 6(5), 25734–25748. <https://doi.org/10.34117/bjdv6n5-140>
- Salihu, A., Alam, Md. Z., AbdulKarim, M. I. Salleh, H. M. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 58, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.10.007>
- Sánchez, D. A., Tonetto, G. M. Ferreira, M. L. (2018). *Burkholderia cepacia* lipase: A versatile catalyst in synthesis reactions. *Biotechnology and Bioengineering*, 115(1), 6–24. <https://doi.org/10.1002/bit.26458>

- Sandoval, G., Casas-Godoy, L., Bonet-Ragel, K., Rodrigues, J., Ferreira-Dias, S. Valero, F. (2017). Enzyme-Catalyzed Production of Biodiesel as Alternative to Chemical- Catalyzed Processes: Advantages and Constraints. *Current Biochemical Engineering*, 4(2).
<https://doi.org/10.2174/2212711904666170615123640>
- Santana, H. S., Tortola, D. S., Reis, É. M., Silva, J. L. Taranto, O. P. (2016). Transesterification reaction of sunflower oil and ethanol for biodiesel synthesis in microchannel reactor: Experimental and simulation studies. *Chemical Engineering Journal*, 302, 752–762. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2016.05.122>
- Santos, S., Puna, J. Gomes, J. (2020). A Review on Bio-Based Catalysts (Immobilized Enzymes) Used for Biodiesel Production. *Energies*, 13(11), 3013.
<https://doi.org/10.3390/en13113013>
- Seber, G. A. F. Lee, A. J. (2003). *Linear Regression Analysis* (2nd ed.). Wiley.
- Selmi, B. Thomas, D. (1998). Immobilized lipase-catalyzed ethanolysis of sunflower oil in a solvent-free medium. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(6), 691–695.
<https://doi.org/10.1007/s11746-998-0207-4>
- Shah, S. Gupta, M. N. (2007). Lipase catalyzed preparation of biodiesel from Jatropha oil in a solvent free system. *Process Biochemistry*, 42(3), 409–414.
<https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.09.024>
- Shah, S., Sharma, S. Gupta, M. N. (2004a). Biodiesel Preparation by Lipase-Catalyzed Transesterification of *Jatropha* Oil. *Energy e Fuels*, 18(1), 154–159.
<https://doi.org/10.1021/ef030075z>
- Shah, S., Sharma, S. Gupta, M. N. (2004b). Biodiesel Preparation by Lipase-Catalyzed Transesterification of *Jatropha* Oil. *Energy e Fuels*, 18(1), 154–159.
<https://doi.org/10.1021/ef030075z>
- Shahedi, M., Yousefi, M., Habibi, Z., Mohammadi, M. As'habi, M. A. (2019). Co-immobilization of *Rhizomucor miehei* lipase and *Candida antarctica* lipase B and optimization of biocatalytic biodiesel production from palm oil using response surface methodology. *Renewable Energy*, 141, 847–857. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.04.042>
- Shi, L., Liu, Z., Li, J. Qin, Z. (2017). Analysis of Edible Vegetable Oils by Infrared Absorption Spectrometry. *Proceedings of the 2017 2nd International Conference on Electrical, Automation and Mechanical Engineering (EAME 2017)*.
<https://doi.org/10.2991/eame-17.2017.67>

- Silva Ferreira, B., Pereira Faza, L. Le Hyaric, M. (2012). A Comparison of the Physicochemical Properties and Fatty Acid Composition of Indaiá (*Attalea dubia*) and Babassu (*Orbignya phalerata*) Oils. *The Scientific World Journal*, 2012, 1–4. <https://doi.org/10.1100/2012/532374>
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. Bryce, D. L. (2014). *Spectrometric Identification of Organic Compounds* (8th ed.). Wiley.
- Smith, H. Draper, N. R. (1998). *Applied Regression Analysis* (3rd ed.). Wiley-Interscience.
- Soares, T. B., Coelho, S. R. M., Christ, D., Schoeninger, V., Comassetto, T. P. Do Prado, N. V. (2024). Pressing extraction and physico-chemical characterization of seed oil and cake of *Jatropha curcas* L. *OBSERVATÓRIO DE LA ECONOMÍA LATINOAMERICANA*, 22(2), e3487. <https://doi.org/10.55905/oelv22n2-224>
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., Muniyandi, B., Ranganathan, S. Lin, L. (2019). Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy*, 3(1), 2–23. <https://doi.org/10.1093/ce/zky020>
- Tongboriboon, K., Cheirsilp, B. H-Kittikun, A. (2010). Mixed lipases for efficient enzymatic synthesis of biodiesel from used palm oil and ethanol in a solvent-free system. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 67(1–2), 52–59. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2010.07.005>
- Toscano, G. Maldini, E. (2007). ANALYSIS OF THE PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERISTICS OF VEGETABLE OILS AS FUEL. *Journal of Agricultural Engineering*, 38(3), 39. <https://doi.org/10.4081/jae.2007.3.39>
- Véras, I. C., Silva, F. A. L., Ferrão-Gonzales, A. D. Moreau, V. H. (2011). One-step enzymatic production of fatty acid ethyl ester from high-acidity waste feedstocks in solvent-free media. *Bioresource Technology*, 102(20), 9653–9658. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2011.08.012>
- Yeşilyurt, M. K., Öner, İ. V. Yılmaz, E. Ç. (2019). Biodiesel Induced Corrosion and Degradation: A Review. *Pamukkale University Journal of Engineering Sciences*, 25(1), 60–70. <https://doi.org/10.5505/pajes.2018.01885>
- Yusop, R. (2013). Physical and Chemical Properties Analysis of *Jatropha curcas* Seed Oil for Industrial Applications. *International Journal of Chemical Science and Engineering*, 7.
- Yuzbasheva, E. Yu., Gotovtsev, P. M., Mostova, E. B., Perkovskaya, N. I., Lomonosova, M. A., Butylin, V. V., Sineokii, S. P. Vasilov, R. G. (2014). Biodiesel production via enzymatic catalysis. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 50(8), 737–749. <https://doi.org/10.1134/S0003683814080067>

Zhao, X., Qi, F., Yuan, C., Du, W. Liu, D. (2015). Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 44, 182–197. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.12.021>

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A busca por maiores rendimentos nas reações de transesterificação tem impulsionado a investigação de diferentes catalisadores, com o objetivo de otimizar processos, reduzir custos e minimizar impactos ambientais. Nesse contexto, as lipases emergem como uma alternativa promissora à catálise química convencional, especialmente quando associadas ao etanol, um álcool renovável e menos tóxico em comparação ao metanol. A transesterificação enzimática, apesar dos desafios inerentes à estabilidade e ao custo dos biocatalisadores, apresenta um caminho inovador e sustentável para a produção de biocombustíveis e outros bioprodutos de interesse industrial.

A lipase oriunda da *Burkholderia cepacia* tem se consolidado como uma das mais utilizadas nesse tipo de processo devido à sua excelente seletividade e estabilidade. No entanto, os custos elevados associados ao uso dessa enzima incentivam a exploração de metodologias que minimizem sua quantidade e maximizem os rendimentos obtidos. Neste estudo, foi possível demonstrar que, mesmo com cargas enzimáticas reduzidas, alcançaram-se rendimentos significativos na conversão do óleo de coco ariri em ésteres, evidenciando a viabilidade do uso dessa lipase de forma mais econômica e eficiente.

Diversos fatores influenciam diretamente os rendimentos da transesterificação enzimática, incluindo a origem do óleo utilizado, a razão molar álcool/óleo, a carga catalítica, a presença de água e outros solventes no sistema reacional, bem como o tempo e a temperatura das reações. No presente estudo, a avaliação criteriosa desses parâmetros permitiu a identificação de condições otimizadas para a transesterificação do óleo de coco ariri, alcançando eficiência comparável à de outros óleos vegetais amplamente utilizados na produção de biodiesel.

O óleo de ariri, um recurso abundante e renovável do estado do Maranhão, demonstrou um potencial significativo para aplicações em reações de transesterificação. Além de fornecer uma alternativa sustentável aos combustíveis fósseis, sua utilização agrega valor a um recurso natural regional, promovendo o desenvolvimento de novas cadeias produtivas e incentivando o aproveitamento de espécies nativas ainda pouco exploradas para fins industriais. Este estudo reforça a relevância da valorização de insumos locais na construção de uma economia mais sustentável e ambientalmente responsável.

Outro aspecto relevante observado ao longo da pesquisa foi a dificuldade em realizar uma comparação detalhada entre diferentes estudos, devido à ausência de uma padronização nas variáveis experimentais utilizadas. Enquanto alguns trabalhos avaliam um amplo espectro

de fatores que influenciam o rendimento, outros optam por reduzir esse número, o que pode levar a resultados divergentes mesmo quando são utilizados os mesmos óleos, lipases ou álcoois. A padronização de protocolos experimentais é fundamental para garantir a comparação precisa dos resultados e facilitar avanços no campo da transesterificação enzimática.

A integração de abordagens teóricas e experimentais também se mostrou uma estratégia valiosa na compreensão dos mecanismos de transesterificação. Simulações computacionais baseadas em dinâmica molecular (DM) e na mistura de mecânica quântica/mecânica molecular (QM/MM) permitiram a análise detalhada das interações entre substratos e lipases, proporcionando insights fundamentais sobre a estabilidade e eficiência do processo catalítico. Essas simulações foram essenciais para prever as condições experimentais mais promissoras e auxiliaram na otimização dos parâmetros reacionais, reforçando o papel da química computacional como uma ferramenta poderosa para o aprimoramento de processos biotecnológicos.

Diante dos resultados obtidos, fica evidente que a busca por procedimentos que tragam melhores rendimentos para as reações de transesterificação deve continuar sendo uma prioridade na pesquisa científica. O aprimoramento das condições reacionais, a exploração de novos substratos e a integração de técnicas computacionais e experimentais são aspectos fundamentais para consolidar a catálise enzimática como uma alternativa competitiva e viável para a indústria.

Por fim, os achados desta pesquisa contribuem significativamente para a compreensão e otimização da transesterificação enzimática, fornecendo subsídios para o desenvolvimento de novas estratégias que possam maximizar a eficiência do processo e ampliar sua aplicação em escala industrial. O aproveitamento do óleo de coco ariri, aliado ao uso de lipases eficientes e às simulações computacionais, abre caminho para avanços na produção de biocombustíveis e bioprodutos, consolidando a transesterificação enzimática como uma solução sustentável para a indústria química e biotecnológica.

9 PERSPECTIVAS FUTURAS

Com base nos resultados obtidos, diversas direções podem ser exploradas para avançar ainda mais no estudo da transesterificação enzimática do óleo de coco ariri. Pesquisas futuras podem se concentrar na imobilização de lipases em diferentes suportes, buscando aumentar sua estabilidade e reutilização em ciclos sucessivos de reação. A análise de novos biocatalisadores, incluindo enzimas geneticamente modificadas, também representa uma abordagem promissora para melhorar a eficiência do processo.

Estudos adicionais, com o uso de solventes ou co-solventes ecológicos, a exploração de diferentes matrizes lipídicas e sua combinação com outros óleos vegetais podem revelar novas possibilidades para aprimorar o processo de transesterificação enzimática do óleo de coco ariri.

Outro aspecto a ser explorado é a possibilidade de modificação estrutural do α -bisabolol ou sua interação com outros aditivos. Técnicas como a funcionalização química ou o uso de nanopartículas como suporte podem ser investigadas para melhorar sua compatibilidade com o meio reacional e otimizar sua eficiência.

REFERÊNCIAS

- Abreu, F. R., Lima, D. G., Hamú, Elias. H., Wolf, C., e Suarez, P. A. Z. (2004). Utilization of metal complexes as catalysts in the transesterification of Brazilian vegetable oils with different alcohols. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 209(1–2), 29–33. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2003.08.003>
- Adewale, P., Vithanage, L. N., e Christopher, L. (2017). Optimization of enzyme-catalyzed biodiesel production from crude tall oil using Taguchi method. *Energy Conversion and Management*, 154, 81–91. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.10.045>
- Alaba, P. A., Sani, Y. M., e Ashri Wan Daud, W. M. (2016). ChemInform Abstract: Efficient Biodiesel Production via Solid Superacid Catalysis: A Critical Review on Recent Breakthrough. *ChemInform*, 47(42). <https://doi.org/10.1002/chin.201642271>
- Ali, S., Rafi, H., e Ikram-ul-Haq. (2010). Production of an extracellular lipase from *Candida lipolytica* and parameter significance analysis by Plackett-Burman design. *Engineering in Life Sciences*, 10(5), 465–473. <https://doi.org/10.1002/elsc.200900099>
- Almeida Júnior, B. de. (2015). *Syagrus cocoides Mart.* MAR - Herbário do Maranhão- Universidade Federal do Maranhão. <https://doi.org/10.15468/9ql44s>
- Andrade, L. E., Forzza, R. C., Silva, G. Z. da, e Filardi, F. L. R. (2018). Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). *Rodriguésia*, 69(4), 1513–1527. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201869402>
- Arachchige, U. S. P. R., Miyuranga, K. A. V., Thilakarathne, D., Jayasinghe, R. A., e Weerasekara, N. A. (2021). Biodiesel-Alkaline Transesterification Process for Methyl Ester Production. *Nature Environment and Pollution Technology*, 20(5). <https://doi.org/10.46488/NEPT.2021.v20i05.013>
- Aroucha, E. P. T. L., e Aroucha, M. L. (2013). *Boas Práticas de Manejo para o Extrativismo Sustentável do Licuri*. Instituto Sociedade, População e Natureza.
- Asakuma, Y., Maeda, K., Kuramochi, H., e Fukui, K. (2009). Theoretical study of the transesterification of triglycerides to biodiesel fuel. *Fuel*, 88(5), 786–791. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.10.045>
- Athar, M., e Zaidi, S. (2020). A review of the feedstocks, catalysts, and intensification techniques for sustainable biodiesel production. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(6), 104523. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104523>

- Awogbemi, O., e Desai, D. A. (2025). Application of computational technologies for transesterification of waste cooking oil into biodiesel. *Biomass and Bioenergy*, 194, 107620. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2025.107620>
- Babaki, M., Yousefi, M., Habibi, Z., e Mohammadi, M. (2017). Process optimization for biodiesel production from waste cooking oil using multi-enzyme systems through response surface methodology. *Renewable Energy*, 105, 465–472. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2016.12.086>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N., e Mehrotra, R. (2010a). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N., e Mehrotra, R. (2010b). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.09.018>
- Barros Neto, B., Scarminio, L. S., e Bruns, R. E. (2010). *Como Fazer Experimentos : Pesquisa e Desenvolvimento na Ciência e na Indústria* (4º ed). Bookman Editora.
- Baskar, G., Aiswarya, R., Soumiya, S., Mohanapriya, N., e Roselin Nivetha, S. (2017). Recent Advances in Heterogeneous Catalysts for Biodiesel Production. *Journal of Energy and Environmental Sustainability*, 4, 1–5. <https://doi.org/10.47469/JEES.2017.v04.100038>
- Bastos, F. C. (2020). *Obtenção e fracionamento de ésteres metílicos de ácidos graxos a partir do óleo de coco ariri (Syagrus cocoides martius)* [Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Química)]. Universidade Federal do Maranhão.
- Belkhanch, H., Rouan, M., Hammi, M., Ziat, Y., e Chigr, M. (2021). Synthesis of Biodiesel by Transesterification of Used Frying Oils (UFO) through Basic Homogeneous Catalysts (NaOH and KOH). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(5), 12858–12868. <https://doi.org/10.33263/BRIAC115.1285812868>
- Berger, P. D., Maurer, R. E., e Celli, G. B. (2018). *Experimental Design: With Application in Management, Engineering, and the Sciences*. Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-64583-4>
- Bohlouli, A., e Mahdavian, L. (2021). Catalysts used in biodiesel production: a review. *Biofuels*, 12(8), 885–898. <https://doi.org/10.1080/17597269.2018.1558836>

- Booramurthy, V. K., Kasimani, R., Pandian, S., e Ragunathan, B. (2020). Nano-sulfated zirconia catalyzed biodiesel production from tannery waste sheep fat. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(17), 20598–20605. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-07984-1>
- Borges, M. E., e Díaz, L. (2012). Recent developments on heterogeneous catalysts for biodiesel production by oil esterification and transesterification reactions: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 16(5), 2839–2849. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.01.071>
- Burkholder, W. H. (1950). Sour skin, a bacterial rot. *Phytopathology*, 40, 115–117.
- Cai, Q., Li, X., e Zhu, W. (2020). High Molecular Weight Biodegradable Poly(ethylene glycol) via Carboxyl-Ester Transesterification. *Macromolecules*, 53(6), 2177–2186. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.9b02177>
- Canet, A., Bonet-Ragel, K., Benaiges, M. D., e Valero, F. (2016). Lipase-catalysed transesterification: Viewpoint of the mechanism and influence of free fatty acids. *Biomass and Bioenergy*, 85, 94–99. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.11.021>
- Cantrell, D. G., Gillie, L. J., Lee, A. F., e Wilson, K. (2005). Structure-reactivity correlations in MgAl hydrotalcite catalysts for biodiesel synthesis. *Applied Catalysis A: General*, 287(2), 183–190. <https://doi.org/10.1016/J.APCATA.2005.03.027>
- Cardoso, R. K. P., Silva, G. V. A., Alves, B. T. S., Freire, V. A., Alves, J. J. N., e Barbosa, B. V. S. (2022). Evaluation of the effect of Si/Mo and oil/alcohol ratios in the production of biodiesel from soybean oil. *Arabian Journal of Chemistry*, 15(9), 104074. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2022.104074>
- Carey, F. A., e Sundberg, R. J. (2007). *Advanced Organic Chemistry: Part B: Reaction and Synthesis* (5^o ed). Springer.
- Carvalho, A. K. F., da Conceição, L. R. V., Silva, J. P. V., Perez, V. H., e de Castro, H. F. (2017). Biodiesel production from *Mucor circinelloides* using ethanol and heteropolyacid in one and two-step transesterification. *Fuel*, 202, 503–511. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2017.04.063>
- Celestino, P. (2009). *Oleaginosas da Amazônia* (2^o ed). Ministério do Desenvolvimento Agrário.

- Chang, A., Jeske, L., Ulbrich, S., Hofmann, J., Koblitz, J., Schomburg, I., Neumann-Schaal, M., Jahn, D., e Schomburg, D. (2021). BRENDA, the ELIXIR core data resource in 2021: new developments and updates. *Nucleic Acids Research*, 49(D1), D498–D508. <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa1025>
- Chouhan, A. P. S., e Sarma, A. K. (2011). Modern heterogeneous catalysts for biodiesel production: A comprehensive review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(9), 4378–4399. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2011.07.112>
- Ciconini, G., Favaro, S. P., Roscoe, R., Miranda, C. H. B., Tapeti, C. F., Miyahira, M. A. M., Bearari, L., Galvani, F., Borsato, A. V., Colnago, L. A., e Naka, M. H. (2013). Biometry and oil contents of *Acrocomia aculeata* fruits from the Cerrados and Pantanal biomes in Mato Grosso do Sul, Brazil. *Industrial Crops and Products*, 45, 208–214. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.12.008>
- Colombo, K., Ender, L., e Barros, A. A. C. (2017). The study of biodiesel production using CaO as a heterogeneous catalytic reaction. *Egyptian Journal of Petroleum*, 26(2), 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2016.05.006>
- Cordeiro, C. S., Silva, F. R. da, Wypych, F., e Ramos, L. P. (2011). Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). *Química Nova*, 34(3), 477–486. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000300021>
- Costa, J. F., Almeida, M. F., Alvim-Ferraz, M. C. M., e Dias, J. M. (2013). Biodiesel production using oil from fish canning industry wastes. *Energy Conversion and Management*, 74, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2013.04.032>
- Coudert, Y. (2017). The Evolution of Branching in Land Plants: Between Conservation and Diversity. Em *Evolutionary Developmental Biology* (p. 1–17). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-33038-9_63-1
- Crepaldi, I. C., Almeida-Muradian, L. B. de, Rios, M. D. G., Penteado, M. de V. C., e Salatino, A. (2001). Composição nutricional do fruto de licuri (*Syagrus coronata* (Martius) Beccari). *Revista Brasileira de Botânica*, 24(2), 155–159. <https://doi.org/10.1590/S0100-84042001000200004>
- De La Salles, K. T. da S., Meneghetti, S. M. P., Ferreira de La Salles, W., Meneghetti, M. R., dos Santos, I. C. F., da Silva, J. P. V., de Carvalho, S. H. V., e Soletti, J. I. (2010). Characterization of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. oil and properties of methyl esters for use

as biodiesel. *Industrial Crops and Products*, 32(3), 518–521.

<https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2010.06.026>

de Lima, A. L., Ronconi, C. M., e Mota, C. J. A. (2016). Heterogeneous basic catalysts for biodiesel production. *Catalysis Science e Technology*, 6(9), 2877–2891.

<https://doi.org/10.1039/C5CY01989C>

Di Serio, M., Tesser, R., Dimiccoli, M., Cammarota, F., Nastasi, M., e Santacesaria, E. (2005). Synthesis of biodiesel via homogeneous Lewis acid catalyst. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 239(1–2), 111–115. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2005.05.041>

Dias, J. M., Araújo, J. M., Costa, J. F., Alvim-Ferraz, M. C. M., e Almeida, M. F. (2013). Biodiesel production from raw castor oil. *Energy*, 53, 58–66.

<https://doi.org/10.1016/j.energy.2013.02.018>

Dizge, N., Aydiner, C., Imer, D. Y., Bayramoglu, M., Tanriseven, A., e Keskinler, B. (2009). Biodiesel production from sunflower, soybean, and waste cooking oils by transesterification using lipase immobilized onto a novel microporous polymer. *Bioresource Technology*, 100(6), 1983–1991. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2008.10.008>

dos Santos Souza, T. G., da Silva, M. M., Feitoza, G. S., de Melo Alcântara, L. F., da Silva, M. A., de Oliveira, A. M., de Oliveira Farias de Aguiar, J. C. R., do Amaral Ferraz Navarro, D. M., de Aguiar Júnior, F. C. A., da Silva, M. V., e Chagas, C. A. (2021). Biological safety of *Syagrus coronata* (Mart.) Becc. Fixed oil: Cytotoxicity, acute oral toxicity, and genotoxicity studies. *Journal of Ethnopharmacology*, 272, 113941.

<https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.113941>

Dulęba, J., Siódmiak, T., e Marszałł, M. P. (2020). Amano Lipase PS from *Burkholderia cepacia*- Evaluation of the Effect of Substrates and Reaction Media on the Catalytic Activity. *Current Organic Chemistry*, 24(7), 798–807.

<https://doi.org/10.2174/1385272824666200408092305>

Encinar, J. M., González, J. F., Martínez, G., e Nogales-Delgado, S. (2022).

Transesterification of Soybean Oil through Different Homogeneous Catalysts: Kinetic Study. *Catalysts*, 12(2), 146. <https://doi.org/10.3390/catal12020146>

ExplorEnz. ([s.d.]). *Enzyme by class*. Recuperado 18 de junho de 2024, de

<https://www.enzyme-database.org/class.php>

- Fajardo, G., Contreras-andrade, I., Pathiyamattom, J., Sodre, J., e Parra Santiago, J. (2014). Transesterification Reaction of Waste Cooking Oil and Chicken Fat by Homogeneous Catalysis. *Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 8, 736–743.
- Farias, P. A. M., Da Silva, I. A., De Queiroz, A. L. F. G., Silva, J. G., Melo, E. R. D., Barros, J. M. de M., Laurentino, C. da S., e Coimbra, C. G. de O. (2021). Propriedades terapêuticas de plantas do gênero *Syagrus*: uma revisão integrativa / Therapeutic properties of plants of the genus *Syagrus*: an integrative review. *Brazilian Journal of Development*, 7(8), 76999–77010. <https://doi.org/10.34117/bjdv7n8-087>
- Faruque, M. O., Razzak, S. A., e Hossain, M. M. (2020). Application of Heterogeneous Catalysts for Biodiesel Production from Microalgal Oil—A Review. *Catalysts*, 10(9), 1025. <https://doi.org/10.3390/catal10091025>
- Ferreira, A. B., Lemos Cardoso, A., e da Silva, M. J. (2012). Tin-Catalyzed Esterification and Transesterification Reactions: A Review. *ISRN Renewable Energy*, 2012, 1–13. <https://doi.org/10.5402/2012/142857>
- Ferreira, G. F., Pinto, L. F. R., Filho, R. M., Fregolente, L. V., Hayward, J., e Bartley, J. K. (2025). Ethanol-Based Transesterification of Rapeseed Oil with CaO Catalyst: Process Optimization and Validation Using Microalgal Lipids. *Catalysis Letters*, 155(2), 84. <https://doi.org/10.1007/s10562-024-04921-6>
- Foroutan, R., Mohammadi, R., Esmaeili, H., Mirzaee Bektashi, F., e Tamjidi, S. (2020). Transesterification of waste edible oils to biodiesel using calcium oxide@magnesium oxide nanocatalyst. *Waste Management*, 105, 373–383. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2020.02.032>
- Frazão, F. F. (2023). *Obtenção de ômega monoésteres do óleo de resíduos de corvina (Macrodon ancylodon) com lipase imobilizada em epicarpo de coco Ariri (Syagrus cocoides)* [Tese (Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia)]. Universidade Federal do Maranhão.
- Freddi, A., e Salmon, M. (2019). *Introduction to the Taguchi Method* (p. 159–180). https://doi.org/10.1007/978-3-319-95342-7_7
- Freitas, F. R. de. (2022, novembro 23). LEVANTAMENTO MORFOLÓGICO DO GÊNERO SYAGRUS (ARECACEAE). *Anais do II Congresso Brasileiro de Biodiversidade Virtual*. <https://doi.org/10.51189/ii-conbiv/6381>

- Gaide, I., Makareviciene, V., e Sendzikiene, E. (2022). Effectiveness of Eggshells as Natural Heterogeneous Catalysts for Transesterification of Rapeseed Oil with Methanol. *Catalysts*, 12(3), 246. <https://doi.org/10.3390/catal12030246>
- Georgogianni, K. G., Katsoulidis, A. K., Pomonis, P. J., Manos, G., e Kontominas, M. G. (2009). Transesterification of rapeseed oil for the production of biodiesel using homogeneous and heterogeneous catalysis. *Fuel Processing Technology*, 90(7–8), 1016–1022. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2009.03.002>
- Gog, A., Roman, M., Toşa, M., Paizs, C., e Irimie, F. D. (2012). Biodiesel production using enzymatic transesterification – Current state and perspectives. *Renewable Energy*, 39(1), 10–16. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2011.08.007>
- Gomes-da-Silva, J., Filardi, F. L. R., Barbosa, M. R. V., Baumgratz, J. F. A., Bicudo, C. E. M., Cavalcanti, T. B., Coelho, M. A. N., Costa, A. F., Costa, D. P., Dalcin, E. C., Labiak, P., Lima, H. C., Lohmann, L. G., Maia, L. C., Mansano, V. F., Menezes, M., Morim, M. P., Moura, C. W. N., Lughadha, E. N., ... Zuntini, A. R. (2022). Brazilian Flora 2020: Leveraging the power of a collaborative scientific network. *TAXON*, 71(1), 178–198. <https://doi.org/10.1002/tax.12640>
- Gotor, V. (2000). Pharmaceuticals Through Enzymatic Transesterification and Enzymatic Aminolysis Reactions. *Biocatalysis and Biotransformation*, 18(2), 87–103. <https://doi.org/10.3109/102424200009015239>
- Gotovuša, M., Pucko, I., Racar, M., e Faraguna, F. (2022). Biodiesel Produced from Propanol and Longer Chain Alcohols—Synthesis and Properties. *Energies*, 15(14), 4996. <https://doi.org/10.3390/en15144996>
- Guldhe, A., Singh, P., Ansari, F. A., Singh, B., e Bux, F. (2017). Biodiesel synthesis from microalgal lipids using tungstated zirconia as a heterogeneous acid catalyst and its comparison with homogeneous acid and enzyme catalysts. *Fuel*, 187, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2016.09.053>
- Guo, J., Sun, S., e Liu, J. (2020). Conversion of waste frying palm oil into biodiesel using free lipase A from *Candida antarctica* as a novel catalyst. *Fuel*, 267, 117323. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.117323>

- Hájek, M., Vávra, A., e Mück, J. (2020). Butanol as a co-solvent for transesterification of rapeseed oil by methanol under homogeneous and heterogeneous catalyst. *Fuel*, 277, 118239. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2020.118239>
- Hallé, F. (2001). Branching in Plants. Em *Branching in Nature* (p. 23–40). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-662-06162-6_2
- Hanh, H. D., Dong, N. T., Okitsu, K., Nishimura, R., e Maeda, Y. (2009). Biodiesel production through transesterification of triolein with various alcohols in an ultrasonic field. *Renewable Energy*, 34(3), 766–768. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.04.007>
- Hara, M. (2009). Environmentally Benign Production of Biodiesel Using Heterogeneous Catalysts. *ChemSusChem*, 2(2), 129–135. <https://doi.org/10.1002/cssc.200800222>
- Hwang, H. T., Qi, F., Yuan, C., Zhao, X., Ramkrishna, D., Liu, D., e Varma, A. (2014). Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Protein engineering and lipase production. *Biotechnology and Bioengineering*, 111(4), 639–653. <https://doi.org/10.1002/bit.25162>
- Jacobson, K., Gopinath, R., Meher, L., e Dalai, A. (2008). Solid acid catalyzed biodiesel production from waste cooking oil. *Applied Catalysis B: Environmental*, 85(1–2), 86–91. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2008.07.005>
- Jaeger, K.-E., e Eggert, T. (2002). Lipases for biotechnology. *Current Opinion in Biotechnology*, 13(4), 390–397. [https://doi.org/10.1016/S0958-1669\(02\)00341-5](https://doi.org/10.1016/S0958-1669(02)00341-5)
- Jegannathan, K. R., Abang, S., Poncelet, D., Chan, E. S., e Ravindra, P. (2008). Production of Biodiesel Using Immobilized Lipase—A Critical Review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 28(4), 253–264. <https://doi.org/10.1080/07388550802428392>
- Jindal, G., e Warshel, A. (2016). Exploring the Dependence of QM/MM Calculations of Enzyme Catalysis on the Size of the QM Region. *The Journal of Physical Chemistry B*, 120(37), 9913–9921. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b07203>
- Kalita, P., Basumatary, B., Saikia, P., Das, B., e Basumatary, S. (2022). Biodiesel as renewable biofuel produced via enzyme-based catalyzed transesterification. *Energy Nexus*, 6, 100087. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2022.100087>
- Kalwij, J. M. (2012). Review of ‘The Plant List, a working list of all plant species’. *Journal of Vegetation Science*, 23(5), 998–1002. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2012.01407.x>

- Kawashima, A., Matsubara, K., e Honda, K. (2008). Development of heterogeneous base catalysts for biodiesel production. *Bioresource Technology*, 99(9), 3439–3443.
<https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2007.08.009>
- Kennedy, J. F. (1987). *Biotechnology: Enzyme Technology* (H. Rehm e G. Gerald Reed, Orgs.; Vol. 7). Wiley VCH.
- Khan, E., Ozaltin, K., Spagnuolo, D., Bernal-Ballen, A., Piskunov, M. V., e Di Martino, A. (2023). Biodiesel from Rapeseed and Sunflower Oil: Effect of the Transesterification Conditions and Oxidation Stability. *Energies*, 16(2), 657.
<https://doi.org/10.3390/en16020657>
- Khiari, K., Tarabet, L., Awad, S., Loubar, K., Mahmoud, R., e Tazerout, M. (2019). Optimization of Pistacia lentiscus Oil Transesterification Process Using Central Composite Design. *Waste and Biomass Valorization*, 10(9), 2575–2581. <https://doi.org/10.1007/s12649-018-0257-2>
- Kiss, F. E., Micic, R. D., Tomić, M. D., Nikolić-Djorić, E. B., e Simikić, M. Đ. (2014). Supercritical transesterification: Impact of different types of alcohol on biodiesel yield and LCA results. *The Journal of Supercritical Fluids*, 86, 23–32.
<https://doi.org/10.1016/j.supflu.2013.11.015>
- Klier, K. (1982). *Methanol Synthesis* (p. 243–313). [https://doi.org/10.1016/S0360-0564\(08\)60455-1](https://doi.org/10.1016/S0360-0564(08)60455-1)
- Kolet, M., Zerbib, D., Molina, K., Nakonechny, F., e Nisnevitch, M. (2020). Biodiesel Production using Lewis Catalysts under Ultrasonic Activation. *Israel Journal of Chemistry*, 60(5–6), 644–651. <https://doi.org/10.1002/ijch.202000034>
- Kouzu, M., Kasuno, T., Tajika, M., Sugimoto, Y., Yamanaka, S., e Hidaka, J. (2008). Calcium oxide as a solid base catalyst for transesterification of soybean oil and its application to biodiesel production. *Fuel*, 87(12), 2798–2806.
<https://doi.org/10.1016/J.FUEL.2007.10.019>
- Kumar Rajamanickam, A., Uvaraja, V. C., Selvamuthukumar, D., e Shanmugasundaram, A. (2020). Experimental Investigation on Production of Jatropha Methyl Ester. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 764(1), 012053.
<https://doi.org/10.1088/1757-899X/764/1/012053>

- Lee, D.-W., Park, Y.-M., e Lee, K.-Y. (2009). Heterogeneous Base Catalysts for Transesterification in Biodiesel Synthesis. *Catalysis Surveys from Asia*, 13(2), 63–77. <https://doi.org/10.1007/s10563-009-9068-6>
- Lee, H. V., Juan, J. C., Binti Abdullah, N. F., Nizah MF, R., e Taufiq-Yap, Y. H. (2014). Heterogeneous base catalysts for edible palm and non-edible Jatropha-based biodiesel production. *Chemistry Central Journal*, 8(1), 30. <https://doi.org/10.1186/1752-153X-8-30>
- Li, H., Wang, Y., Ma, X., Wu, Z., Cui, P., Lu, W., Liu, F., Chu, H., e Wang, Y. (2020). A novel magnetic CaO-based catalyst synthesis and characterization: Enhancing the catalytic activity and stability of CaO for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*, 391, 123549. <https://doi.org/10.1016/J.CEJ.2019.123549>
- Li, Q., Wang, H., Wang, X., Zhu, J., e Yao, J. (2024). Computational and experimental identification of an exceptionally efficient ethyl ester synthetase with broad substrate specificity and high product yield, suggests potential for industrial biocatalysis. *International Journal of Biological Macromolecules*, 280, 135912. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.135912>
- Lisboa, M. C., Wiltshire, F. M. S., Fricks, A. T., Dariva, C., Carrière, F., Lima, Á. S., e Soares, C. M. F. (2020). Oleochemistry potential from Brazil northeastern exotic plants. *Biochimie*, 178, 96–104. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2020.09.002>
- Liu, G., Yang, J., e Xu, X. (2020). Synthesis of hydrotalcite-type mixed oxide catalysts from waste steel slag for transesterification of glycerol and dimethyl carbonate. *Scientific Reports*, 10(1), 10273. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-67357-z>
- Liu, T., Zhao, B., e Zhang, J. (2020). Recent development of repairable, malleable and recyclable thermosetting polymers through dynamic transesterification. *Polymer*, 194, 122392. <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2020.122392>
- Liu, Y., Tan, H., Zhang, X., Yan, Y., e Hameed, B. H. (2010). Effect of monohydric alcohols on enzymatic transesterification for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*, 157(1), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2009.12.024>
- Lopes, L. F., Santos, C. M. A., e Nascimento, L. G. (2022). Otimização estatística da síntese de biodiesel a partir de óleo de girassol em rota metálica. *Revista Ibero Americana de Ciências Ambientais*, 13(9), 1–14.

- Lorenzi, H., Kahn, F., Noblick, L. R., e Ferreira, E. (2010). *Flora Brasileira - Arecaceae (Palmeiras)* (1º ed). Instituto Plantarum.
- Lotero, E., Liu, Y., Lopez, D. E., Suwannakarn, K., Bruce, D. A., e Goodwin, J. G. (2005). Synthesis of Biodiesel via Acid Catalysis. *Industrial e Engineering Chemistry Research*, 44(14), 5353–5363. <https://doi.org/10.1021/ie049157g>
- Luna, C., Luna, D., Calero, J., Bautista, F. M., Romero, A. A., Posadillo, A., e Verdugo-Escamilla, C. (2016). Biochemical catalytic production of biodiesel. Em *Handbook of Biofuels Production* (p. 165–199). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100455-5.00007-2>
- Ma, Y., Wang, Q., Gao, Z., Sun, X., Wang, N., Niu, R., e Ma, H. (2016). Transesterification of waste cooking oil using FeCl₃-modified resin catalyst and the research of catalytic mechanism. *Renewable Energy*, 86, 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2015.08.079>
- Maghraby, Y. R., El-Shabasy, R. M., Ibrahim, A. H., e Azzazy, H. M. E.-S. (2023). Enzyme Immobilization Technologies and Industrial Applications. *ACS Omega*, 8(6), 5184–5196. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c07560>
- Mahenthiralingam, E., Baldwin, A., e Dowson, C. G. (2008). Burkholderia cepacia complex bacteria: opportunistic pathogens with important natural biology. *Journal of Applied Microbiology*, 104(6), 1539–1551. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03706.x>
- Maheshwari, P., Haider, M. B., Yusuf, M., Klemeš, J. J., Bokhari, A., Beg, M., Al-Othman, A., Kumar, R., e Jaiswal, A. K. (2022). A review on latest trends in cleaner biodiesel production: Role of feedstock, production methods, and catalysts. *Journal of Cleaner Production*, 355, 131588. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.131588>
- Mandari, V., e Devarai, S. K. (2022a). Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a Critical Review. *BioEnergy Research*, 15(2), 935–961. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w>
- Mandari, V., e Devarai, S. K. (2022b). Biodiesel Production Using Homogeneous, Heterogeneous, and Enzyme Catalysts via Transesterification and Esterification Reactions: a Critical Review. *BioEnergy Research*, 15(2), 935–961. <https://doi.org/10.1007/s12155-021-10333-w>

- Martinez-Guerra, E., e Gude, V. G. (2014). Synergistic effect of simultaneous microwave and ultrasound irradiations on transesterification of waste vegetable oil. *Fuel*, 137, 100–108. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2014.07.087>
- Martinez-Guerra, E., e Gude, V. G. (2016). Alcohol effect on microwave-ultrasound enhanced transesterification reaction. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*, 101, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2015.12.003>
- Masango, S. B., Ngema, P. T., Olagunju, O. A., e Ramsuroop, S. (2024). The Effect of Reaction Temperature, Catalyst Concentration and Alcohol Ratio in the Production of Biodiesel from Raw and Purified Castor Oil. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 14(03), 137–154. <https://doi.org/10.4236/aces.2024.143009>
- Mateos, P. S., Navas, M. B., Morcelle, S. R., Ruscitti, C., Matkovic, S. R., e Briand, L. E. (2021). Insights in the biocatalyzed hydrolysis, esterification and transesterification of waste cooking oil with a vegetable lipase. *Catalysis Today*, 372, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.09.027>
- McDonald, A. G., e Tipton, K. F. (2023). Enzyme nomenclature and classification: the state of the art. *The FEBS Journal*, 290(9), 2214–2231. <https://doi.org/10.1111/febs.16274>
- McMurry, J. E. (2011). *Organic Chemistry* (8^o ed). Cengage Learning.
- Micic, R. D., Tomić, M. D., Kiss, F. E., Nikolić-Djorić, E. B., e Simikić, M. Đ. (2014). Influence of reaction conditions and type of alcohol on biodiesel yields and process economics of supercritical transesterification. *Energy Conversion and Management*, 86, 717–726. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2014.06.052>
- Miyuranga, K. A. V., Arachchige, U. S. P. R., Marso, T. M. M., e Samarakoon, G. (2023). Biodiesel Production through the Transesterification of Waste Cooking Oil over Typical Heterogeneous Base or Acid Catalysts. *Catalysts*, 13(3), 546. <https://doi.org/10.3390/catal13030546>
- Mohadesi, M., Aghel, B., Khademi, M. H., e Sahraei, S. (2017). Optimization of biodiesel production process in a continuous microchannel using response surface methodology. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 34(4), 1013–1020. <https://doi.org/10.1007/s11814-016-0342-9>

- Monika, Banga, S., e Pathak, V. V. (2023). Biodiesel production from waste cooking oil: A comprehensive review on the application of heterogenous catalysts. *Energy Nexus*, 10, 100209. <https://doi.org/10.1016/j.nexus.2023.100209>
- Moreira, K. da S., de Oliveira, A. L. B., Júnior, L. S. de M., Monteiro, R. R. C., da Rocha, T. N., Menezes, F. L., Fachine, L. M. U. D., Denardin, J. C., Michea, S., Freire, R. M., Fachine, P. B. A., Souza, M. C. M., e dos Santos, J. C. S. (2020). Lipase From *Rhizomucor miehei* Immobilized on Magnetic Nanoparticles: Performance in Fatty Acid Ethyl Ester (FAEE) Optimized Production by the Taguchi Method. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00693>
- Moschona, A., Spanou, A., Pavlidis, I. V., Karabelas, A. J., e Patsios, S. I. (2024). Optimization of Enzymatic Transesterification of Acid Oil for Biodiesel Production Using a Low-Cost Lipase: The Effect of Transesterification Conditions and the Synergy of Lipases with Different Regioselectivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 196(11), 8168–8189. <https://doi.org/10.1007/s12010-024-04941-3>
- Moura, J. C., Penha, E. C. da S., De Lima, B. da S. F., E Souza, G. A. B. C., Salgado, N. M. de C., Andrade, L. P., De Carvalho, M. B. B., e Ribeiro, R. M. (2023). Prospecção de patentes para *Syagrus cocoides* como ferramenta de planejamento estratégico para o tratamento de desordens cardiovasculares. *Brazilian Journal of Health Review*, 6(3), 9329–9345. <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n3-075>
- Moya Joëlle Carole, A., Konan Edmond, K., Abollé, A., Esaie Kouadio Appiah, K., e Kouassi Benjamin, Y. (2023). Transesterification of vegetable oils into biodiesel by an immobilized lipase: a review. *Biofuels*, 14(10), 1087–1101. <https://doi.org/10.1080/17597269.2023.2203433>
- Mukhtar, A., Saqib, S., Lin, H., Hassan Shah, M. U., Ullah, S., Younas, M., Rezakazemi, M., Ibrahim, M., Mahmood, A., Asif, S., e Bokhari, A. (2022). Current status and challenges in the heterogeneous catalysis for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 157, 112012. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2021.112012>
- Mumtaz, M. W., Adnan, A., Mukhtar, H., Rashid, U., e Danish, M. (2017). Biodiesel Production Through Chemical and Biochemical Transesterification. Em *Clean Energy for Sustainable Development* (p. 465–485). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805423-9.00015-6>

- Musa, I. A. (2016). The effects of alcohol to oil molar ratios and the type of alcohol on biodiesel production using transesterification process. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25(1), 21–31. <https://doi.org/10.1016/j.ejpe.2015.06.007>
- Narwal, S. K., e Gupta, R. (2013). Biodiesel production by transesterification using immobilized lipase. *Biotechnology Letters*, 35(4), 479–490. <https://doi.org/10.1007/s10529-012-1116-z>
- Nisar, S., Hanif, M. A., Rashid, U., Hanif, A., Akhtar, M. N., e Ngamcharussrivichai, C. (2021). Trends in Widely Used Catalysts for Fatty Acid Methyl Esters (FAME) Production: A Review. *Catalysts*, 11(9), 1085. <https://doi.org/10.3390/catal11091085>
- Noblick, L. R. (2017a). A revision of the genus *Syagrus* (Arecaceae). *Phytotaxa*, 294(1), 1. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.294.1.1>
- Noblick, L. R. (2017b). A revision of the genus *Syagrus* (Arecaceae). *Phytotaxa*, 294(1), 1. <https://doi.org/10.11646/phytotaxa.294.1.1>
- Noblick, L. R. (2019). *Guia para as palmeiras do nordeste do Brasil*. UEFS Editora.
- Oliveira, I. R. S. de. (2018). *Potencial energético do coco ariri (Syagrus cocoides) para a geração de energia* [Dissertação (Programa de Pós-graduação em Energia e Meio Ambiente)]. Universidade Federal do Maranhão.
- Orege, J. I., Oderinde, O., Kifle, G. A., Ibikunle, A. A., Raheem, S. A., Ejeromedoghene, O., Okeke, E. S., Olukowi, O. M., Orege, O. B., Fagbohun, E. O., Ogundipe, T. O., Avor, E. P., Ajayi, O. O., e Daramola, M. O. (2022). Recent advances in heterogeneous catalysis for green biodiesel production by transesterification. *Energy Conversion and Management*, 258, 115406. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2022.115406>
- Osman, A. I., Nasr, M., Farghali, M., Rashwan, A. K., Abdelkader, A., Al-Muhtaseb, A. H., Ihara, I., e Rooney, D. W. (2024). Optimizing biodiesel production from waste with computational chemistry, machine learning and policy insights: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 22(3), 1005–1071. <https://doi.org/10.1007/s10311-024-01700-y>
- Ostojčić, M., Budžaki, S., Flanjak, I., Bilić Rajs, B., Barišić, I., Tran, N. N., Hessel, V., e Strelec, I. (2021). Production of biodiesel by *Burkholderia cepacia* lipase as a function of process parameters. *Biotechnology Progress*, 37(2). <https://doi.org/10.1002/btpr.3109>

- Otera, Junzo. (1993). Transesterification. *Chemical Reviews*, 93(4), 1449–1470.
<https://doi.org/10.1021/cr00020a004>
- Paintsil, A., Armah, F. A., e Yanful, E. K. (2017). Assessment of the Transesterification Stage of Biodiesel Production I: Application of a Plackett–Burman Design to Select the Process Variables. *Waste and Biomass Valorization*, 8(2), 473–481.
<https://doi.org/10.1007/s12649-016-9583-4>
- Parmar, V. S., Prasad, A. K., Sharma, N. K., Bisht, K. S., Sinha, R., e Taneja, P. (1992). Potential applications of enzyme-mediated transesterifications in the synthesis of bioactive compounds. *Pure and Applied Chemistry*, 64(8), 1135–1139.
<https://doi.org/10.1351/pac199264081135>
- Penha, E. C. da S. (2023). *Bioprospecção de Syagrus cocoides Martius em modelo experimental de desordem isquêmica cardíaca induzida em ratos* [Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde/CCBS)]. Universidade Federal do Maranhão.
- Penha, E. C. da S., Moura, J. C., Pires, T. de P. R. S., Carvalho, R. C., Sousa, E. M. de, Camara, A. L., e Ribeiro, R. M. (2023). Syagrus coronata como fonte de compostos bioativos: aspectos fitoquímicos e potenciais biológicos e industriais na saúde humana e veterinária. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*, 6, 29–50.
- Peterson, G. R., e Scarrah, W. P. (1984). Rapeseed oil transesterification by heterogeneous catalysis. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(10), 1593–1597.
<https://doi.org/10.1007/BF02541639>
- Pinheiro, C. U. B., Balick, M. J., e Frazao, J. M. F. (1996). Branching in Syagrus cocoides (Arecaceae) in Maranhao, Northeastern Brazil. *Brittonia*, 48(4), 556.
<https://doi.org/10.2307/2807876>
- Pinto, A. C., Guarieiro, L. L. N., Rezende, M. J. C., Ribeiro, N. M., Torres, E. A., Lopes, W. A., Pereira, P. A. de P., e Andrade, J. B. de. (2005). Biodiesel: an overview. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 16(6b), 1313–1330. <https://doi.org/10.1590/S0103-50532005000800003>
- Pires, T. de P. R. S. (2020). *Bioprospecção de Syagrus cocoides martius: potencial produtivo, caracterização química, avaliação da toxicidade e do efeito cardiovascular em ratos* [Tese de doutorado]. Universidade Federal do Maranhão.

- Porto de Souza Vandenberghe, L., Karp, S. G., Binder Pagnoncelli, M. G., von Linsingen Tavares, M., Libardi Junior, N., Valladares Diestra, K., Viesser, J. A., e Soccol, C. R. (2020). Classification of enzymes and catalytic properties. Em *Biomass, Biofuels, Biochemicals* (p. 11–30). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819820-9.00002-8>
- Rajendran, N., Pandey, A., Gnansounou, E., Gurunathan, B., e Han, J. (2022). Techno-economic analysis of biodiesel production from nonedible biooil using catalytic transesterification. Em *Biofuels and Bioenergy* (p. 601–626). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-90040-9.00003-5>
- Ramos, L. P., Silva, F. R. da, Mangrich, A. S., e Cordeiro, C. S. (2011). Biodiesel Production Technologies. *Revista Virtual de Química*, 3(5). <https://doi.org/10.5935/1984-6835.20110043>
- Rao, Gullapalli. B. D., Anjaneyulu, B., Kaushik, Mahabir. P., e Prasad, Mailavaram. R. (2021). β -Ketoesters: An Overview and It's Applications via Transesterification. *ChemistrySelect*, 6(40), 11060–11075. <https://doi.org/10.1002/slct.202102949>
- Rashid, U., Anwar, F., Ashraf, M., Saleem, M., e Yusup, S. (2011). Application of response surface methodology for optimizing transesterification of Moringa oleifera oil: Biodiesel production. *Energy Conversion and Management*, 52(8–9), 3034–3042. <https://doi.org/10.1016/j.enconman.2011.04.018>
- Rezende, M., de Lima, A. L., Silva, B., Mota, C., Torres, E., da Rocha, G., Cardozo, I., Costa, K., Guarieiro, L., Pereira, P., Martinez, S., e de Andrade, J. (2021). Biodiesel: An Overview II. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20210046>
- Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Mofijur, M., Silitonga, A. S., Rahman, S. M. A., e Ahmad, A. (2020a). State of the Art of Catalysts for Biodiesel Production. *Frontiers in Energy Research*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00101>
- Rizwanul Fattah, I. M., Ong, H. C., Mahlia, T. M. I., Mofijur, M., Silitonga, A. S., Rahman, S. M. A., e Ahmad, A. (2020b). State of the Art of Catalysts for Biodiesel Production. *Frontiers in Energy Research*, 8. <https://doi.org/10.3389/fenrg.2020.00101>
- Robinson, P. K. (2015). Enzymes: principles and biotechnological applications. *Essays in Biochemistry*, 59, 1–41. <https://doi.org/10.1042/bse0590001>
- Rocha, K. M. R. da, Andrade, W. M. de, e Freitas, Â. M. M. de. (2022). Caracterização morfológica das estruturas reprodutivas de *syagrus coronata* (Mart.) Becc. (Arecaceae) na

ecorregião do raso da Catarina, Bahia, Brasil. *International Journal of Development Research*, 56800–56803. <https://doi.org/10.37118/ijdr.24640.06.2022>

Rodrigues, R. C., Volpato, G., Wada, K., e Ayub, M. A. Z. (2008). Enzymatic Synthesis of Biodiesel from Transesterification Reactions of Vegetable Oils and Short Chain Alcohols. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 85(10), 925–930. <https://doi.org/10.1007/s11746-008-1284-0>

Ruschel, C. F. C., Ferrão, M. F., Santos, F. P. Dos, e Samios, D. (2016). OTIMIZATION OF TRANSESTERIFICATION DOUBLE STEP PROCESS (TDSP) TO THE PRODUCTION OF BIODIESEL THROUGH DOEHLERT EXPERIMENTAL DESIGN. *Química Nova*. <https://doi.org/10.5935/0100-4042.20160018>

Sabin, J. R. (2010). *Combining Quantum Mechanics and Molecular Mechanics. Some Recent Progresses in QM/MM Methods* (1^o ed, Vol. 59). Academic Press.

Salihu, A., Alam, Md. Z., AbdulKarim, M. I., e Salleh, H. M. (2012). Lipase production: An insight in the utilization of renewable agricultural residues. *Resources, Conservation and Recycling*, 58, 36–44. <https://doi.org/10.1016/j.resconrec.2011.10.007>

Sánchez, D. A., Tonetto, G. M., e Ferreira, M. L. (2018). *Burkholderia cepacia* lipase: A versatile catalyst in synthesis reactions. *Biotechnology and Bioengineering*, 115(1), 6–24. <https://doi.org/10.1002/bit.26458>

Sant'Anna-Santos, B. F., de Azevedo, I. F. P., Micheli, R., e Soffiatti, P. (2023). Morpho-anatomical novelties of a dwarf Syagrus (Arecaceae) of canga: implications for ecology, conservation, and taxonomy. *Plant Systematics and Evolution*, 309(2), 8. <https://doi.org/10.1007/s00606-023-01843-5>

Saravanan, N., Puan, S., Nagarajan, G., e Vedaraman, N. (2010). An experimental comparison of transesterification process with different alcohols using acid catalysts. *Biomass and Bioenergy*, 34(7), 999–1005. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2010.02.008>

Sasso, F., Natalello, A., Castoldi, S., Lotti, M., Santambrogio, C., e Grandori, R. (2016). *Burkholderia cepacia* lipase is a promising biocatalyst for biofuel production. *Biotechnology Journal*, 11(7), 954–960. <https://doi.org/10.1002/biot.201500305>

Schuchardt, U., Sercheli, R., e Vargas, R. M. (1998). Transesterification of vegetable oils: a review. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 9(3). <https://doi.org/10.1590/S0103-50531998000300002>

- Scoffone, V. C., Chiarelli, L. R., Trespidi, G., Mentasti, M., Riccardi, G., e Buroni, S. (2017). Burkholderia cenocepacia Infections in Cystic Fibrosis Patients: Drug Resistance and Therapeutic Approaches. *Frontiers in Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01592>
- Shah, S., Sharma, S., e Gupta, M. (2003). Enzymatic transesterification for biodiesel production. *Indian journal of biochemistry e biophysics*, 40, 392–399.
- Shahedi, M., Yousefi, M., Habibi, Z., Mohammadi, M., e As'habi, M. A. (2019). Co-immobilization of Rhizomucor miehei lipase and Candida antarctica lipase B and optimization of biocatalytic biodiesel production from palm oil using response surface methodology. *Renewable Energy*, 141, 847–857. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2019.04.042>
- Sheldon, D. (2017). Methanol Production – A Technical History. *Johnson Matthey Technology Review*, 61(3), 172–182. <https://doi.org/10.1595/205651317X695622>
- Silva, L. T. dos S., Andrade, L. P., Lima, B. da S. F. de, Brito, E., Carvalho, M. B. B. de, Penha, E. C. da S., e Ribeiro, R. M. (2023). FORMULAÇÃO DE USO ORAL COM SYAGRUS COCOIDES MARTIUS E SEU USO EM COMORBIDADES CARDÍACAS. *Anais do I Simpósio Nacional em Ciências da Saúde*.
- Singh, A. K., e Fernando, S. D. (2008). Transesterification of Soybean Oil Using Heterogeneous Catalysts. *Energy e Fuels*, 22(3), 2067–2069. <https://doi.org/10.1021/ef800072z>
- Smith, M. B. (2020). *March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* (8º ed). John Wiley e Sons.
- Soares, K. P. (2020). *Syagrus in Flora e Funga do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB15734>
- Soriano, N. U., Venditti, R., e Argyropoulos, D. S. (2009a). Biodiesel synthesis via homogeneous Lewis acid-catalyzed transesterification. *Fuel*, 88(3), 560–565. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.10.013>
- Soriano, N. U., Venditti, R., e Argyropoulos, D. S. (2009b). Biodiesel synthesis via homogeneous Lewis acid-catalyzed transesterification. *Fuel*, 88(3), 560–565. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2008.10.013>

- Speert, D. P. (2002). Advances in Burkholderia cepacia complex. *Paediatric Respiratory Reviews*, 3(3), 230–235. [https://doi.org/10.1016/S1526-0542\(02\)00185-9](https://doi.org/10.1016/S1526-0542(02)00185-9)
- Subramaniam, S., Ahmad, H., Bakar, N. A., Haris, F. A., e Rahman, R. A. (2023). The Investigation Of The Synthesis Cooking Oil As A New Power Transformer Oil. *Journal of Physics: Conference Series*, 2523(1), 012020. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/2523/1/012020>
- Szczęśna Antczak, M., Kubiak, A., Antczak, T., e Bielecki, S. (2009). Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. *Renewable Energy*, 34(5), 1185–1194. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2008.11.013>
- Tacias-Pascacio, V. G., Torrestiana-Sánchez, B., Dal Magro, L., Virgen-Ortíz, J. J., Suárez-Ruíz, F. J., Rodrigues, R. C., e Fernandez-Lafuente, R. (2019). Comparison of acid, basic and enzymatic catalysis on the production of biodiesel after RSM optimization. *Renewable Energy*, 135, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.11.107>
- Taufiq-Yap, Y. H., Lee, H. V., Hussein, M. Z., e Yunus, R. (2011). Calcium-based mixed oxide catalysts for methanolysis of Jatropha curcas oil to biodiesel. *Biomass and Bioenergy*, 35(2), 827–834. <https://doi.org/10.1016/J.BIOMBIOE.2010.11.011>
- Tephly, T. R. (1991). The toxicity of methanol. *Life Sciences*, 48(11), 1031–1041. [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(91\)90504-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(91)90504-5)
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., Muniyandi, B., Ranganathan, S., e Lin, L. (2019a). Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy*, 3(1), 2–23. <https://doi.org/10.1093/ce/zky020>
- Thangaraj, B., Solomon, P. R., Muniyandi, B., Ranganathan, S., e Lin, L. (2019b). Catalysis in biodiesel production—a review. *Clean Energy*, 3(1), 2–23. <https://doi.org/10.1093/ce/zky020>
- Wang, B., Wang, B., Shukla, S. K., e Wang, R. (2023). Enabling Catalysts for Biodiesel Production via Transesterification. *Catalysts*, 13(4), 740. <https://doi.org/10.3390/catal13040740>
- Wang, Y., Ou, S., Liu, P., Xue, F., e Tang, S. (2006). Comparison of two different processes to synthesize biodiesel by waste cooking oil. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical*, 252(1–2), 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.molcata.2006.02.047>

- Wattanaphon, H. T., Kerdsin, A., Thammacharoen, C., Sangvanich, P., e Vangnai, A. S. (2008). A biosurfactant from *Burkholderia cenocepacia* BSP3 and its enhancement of pesticide solubilization. *Journal of Applied Microbiology*, 105(2), 416–423.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03755.x>
- WFO. (2024). *Syagrus Mart.* <https://www.worldfloraonline.org/taxon/wfo-4000037145>
- Widiarti, N., Lailun Ni'mah, Y., Bahruji, H., e Prasetyoko, D. (2019). Development of CaO From Natural Calcite as a Heterogeneous Base Catalyst in the Formation of Biodiesel: Review. *Journal of Renewable Materials*, 7(10), 915–939.
<https://doi.org/10.32604/jrm.2019.07183>
- Wissmann, P. J., e Grover, M. A. (2009). A new approach to batch process optimization using experimental design. *AIChE Journal*, 55(2), 342–353.
<https://doi.org/10.1002/aic.11715>
- Xia, S., Lin, J., Sayanjali, S., Shen, C., e Cheong, L. (2024). Lipase-catalyzed production of biodiesel: a critical review on feedstock, enzyme carrier and process factors. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 18(1), 291–309. <https://doi.org/10.1002/bbb.2561>
- Yu, G.-W., Nie, J., Lu, L.-G., Wang, S.-P., Li, Z.-G., e Lee, M.-R. (2017). Transesterification of soybean oil by using the synergistic microwave-ultrasonic irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 39, 281–290. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.04.036>
- Yusuf, N. N. A. N., Kamarudin, S. K., e Yaakub, Z. (2011). Overview on the current trends in biodiesel production. *Energy Conversion and Management*, 52(7), 2741–2751.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2010.12.004>

ANEXO I – Carta de aceite – Revista Vale do Rio Verde

www.unincor.br**Carta de Aceite** - Revista da Universidade Vale do Rio VerdeReferente ao código de fluxo: **6588**

Temos o prazer de informar que o manuscrito **“ROTAS BIOTECNOLÓGICAS APLICADAS EM REAÇÕES DE TRANSESTERIFICAÇÃO”** dos autores Carlos Alberto Lira Junior, Wellington da Conceição Lobato do Nascimento, Adeilton Pereira Maciel, foi aprovado pelo Conselho Editorial da Revista do Centro Universitário Unincor” e será publicado em breve.

Vale lembrar que algumas informações/modificações poderão ser solicitadas até a publicação do artigo.

Mediante parecer dos revisores a Editora Científica considerou o manuscrito apto para publicação na Revista Eletrônica do Centro Universitário Unincor. A indicação para publicação ocorrerá em conformidade com a cronologia de recebimento/aprovação.

Três Corações, 04 de dezembro de 2024

JOSE RODRIGO DA
SILVA:06176465621
5621

Assinado de forma
digital por JOSE
RODRIGO DA
SILVA:06176465621
Dados: 2024.12.04
18:07:02 -03'00"

Prof. José Rodrigo da Silva
Gerente Geral de Periódicos do Centro Universitário Unincor

Centro Universitário UninCor

📍 Avenida Castelo Branco, nº 82, Chácara das Rosas
Três Corações/MG - 37410-000

☎ (35) 3112-2491
🌐 www.unincor.br



ANEXO II – Artigo publicado – Cuadernos de Educación y Desarrollo

Português (Brasil) ▾

CadastroAcesso

Cuadernos de Educación y Desarrollo

SOBRE A REVISTA ▾

POLÍTICAS EDITORIAIS ▾

ATUAL

ARQUIVOS ▾

FONTES DE INDEXAÇÃO ▾

CONTATO

SUBMISSÕES

TEMPLATE PARA OS AUTORES

v. 17 n. 1 (2025)

Química computacional: uma revisão sobre métodos, fundamentos e aplicações científicas

ARTICLES

<https://doi.org/10.55905/cuadv17n1-080>

Publicado 2025-01-14

Carlos Alberto Lira Junior, Wellington da Conceição Lobato do Nascimento, Emanuel da Cruz Lima, Yuri Ramos Menezes Santos Soeiro, Natanael de Sousa Sousa, Alberto Monteiro dos Santos, Adeilton Pereira Maciel

Resumo

A química computacional emerge como uma área indispensável na ciência moderna, integrando conceitos de química, física, matemática e ciência da computação para estudar e prever estruturas, propriedades e comportamentos moleculares. Este artigo de revisão aborda os principais métodos utilizados na área, classificados em Ab initio, teoria do funcional da densidade (DFT), semiempíricos e empíricos, destacando suas características, avanços históricos. Os métodos Ab initio e DFT, baseados em princípios da física quântica, fornecem cálculos precisos para sistemas moleculares complexos, embora apresentem alto custo computacional. Já os métodos semiempíricos, ao combinar dados experimentais com teorias simplificadas, oferecem alternativas econômicas para simular respostas e propriedades moleculares. Métodos empíricos, como mecânica molecular (MM) e dinâmica molecular (DM), complementam essa abordagem, permitindo o estudo de sistemas macromoleculares e dinâmicas temporais. Os avanços recentes incluem o desenvolvimento de métodos híbridos, como mecânica quântica/mecânica molecular (QM/MM), que integram diferentes abordagens para lidar com sistemas amplos e complexos. As aplicações da química computacional abrangem desde a catálise química até a biotecnologia e a ciência dos materiais, demonstrando seu impacto em áreas como nanotecnologia. Embora desafios, como os altos custos computacionais e a necessidade de maior precisão, ainda persistem, os avanços em hardware e algoritmos sinalizando um futuro promissor. Este artigo reafirma a relevância da química computacional como uma ferramenta estratégica para o progresso científico.

Palavras-chave

simulação molecular
métodos semiempíricos
dinâmica molecular
mecânica quântica
mecânica molecular

Como Citar

Lira Junior, C. A., Nascimento, W. da C. L. do, Lima, E. da C., Soeiro, Y. R. M. S., Sousa, N. de S., Santos, A. M. dos, & Maciel, A. P. (2025). Química computacional: uma revisão sobre métodos, fundamentos e aplicações científicas. *Cuadernos De Educación Y Desarrollo*, 17(1), e7238. <https://doi.org/10.55905/cuadv17n1-080>

Fomatos de Citação ▾

ANEXO III – Submissão – International Journal of Quantum Chemistry

Manuscript submitted to International Journal of Quantum Chemistry - QUA-2025-0111, Author Externa Caixa de entrada x



Quantum Chemistry <onbehalf@manuscriptcentral.com>
para mim, cellqmcdf, yuuriramos, albertos, ap.maciei

15:37 (há 12 minutos)



Traduza para o português



24-Feb-2025

Manuscript number: QUA-2025-0111

Dear Dr. Junior:

Your manuscript entitled "THEORETICAL AND EXPERIMENTAL STUDY OF THE ENZYMATIC TRANSESTERIFICATION OF ARIRI COCONUT OIL WITH α -BISABOLOL AND ETHANOL: A COMPARATIVE STUDY" has been successfully submitted online and is presently being given full consideration for publication in the International Journal of Quantum Chemistry. Your manuscript ID is QUA-2025-0111. Please mention the above manuscript number in all future correspondence regarding this submission.

Our journal is currently transitioning to Wiley's Research Exchange submission portal.

If you submitted this manuscript through our Research Exchange site, you can view the status of your manuscript by logging into the submission site at wiley.atyponrex.com/journal/qua

If you submitted this manuscript through ScholarOne, you can view the status of your manuscript by checking your Author Center after logging in to <https://mc.manuscriptcentral.com/qua>.

This journal offers a number of license options, information about this is available here: <https://authorservices.wiley.com/author-resources/Journal-Authors/licensing/index.html>. All co-authors are required to confirm that they have the necessary rights to grant in the submission, including in light of each co-author's funder policies. For example, if you or one of your co-authors received funding from a member of Coalition S, you may need to check which licenses you are able to sign.

Thank you for submitting your manuscript to the International Journal of Quantum Chemistry.

Sincerely,

Editorial Administration Office
International Journal of Quantum Chemistry

ANEXO IV – Submissão – Revista Ciência e Natura

[CeN] Submission Acknowledgement Externa 

 |

Prof. Hans Rogério Zimmermann <cienciaenatura@ufsm.br>
para mim ▼

sáb., 7 de set., 00:08  

 Traduza para o português 

Carlos Alberto Lira Junior:

Thank you for submitting the manuscript, "Innovative use of ariri coconut oil in the sustainable and rapid production of esters via enzymatic transesterification with ethanol" to Ciência Natura. With the online journal management system that we are using, you will be able to track its progress through the editorial process by logging in to the journal web site:

Submission URL: <https://periodicos.ufsm.br/cienciaenatura/authorDashboard/submission/88915>
Username: carloslira

If you have any questions, please contact me. Thank you for considering this journal as a venue for your work.

Prof. Hans Rogério Zimmermann
Ciencia e Natura Journal - Editorial Team

 Responder

 Encaminhar