



ISSN: 1984-3151

AVALIAÇÃO DA EFICIÊNCIA DA CATÁLISE ENZIMÁTICA NA CONVERSÃO DE ÁCIDOS GRAXOS LIVRES DO ÓLEO DA POLPA DE MACAÚBA

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF ENZYMATIC CATALYSIS FOR CONVERSION OF FREE FATTY ACIDS FROM MACAUBA PULP OIL

Bruna Tais Ferreira de Mello¹; Sandra Beserra da Silva²; Camila da Silva³

- 1 Mestranda em Bioenergia. Universidade Estadual de Maringá, 2015. Graduada em Química Industrial, Universidade Paranaense. Umuarama, PR. brunamellosjp@hotmail.com.
- 2 Mestranda em Bioenergia. Universidade Estadual de Maringá, 2015. Graduada em Tecnologia em Alimentos, Universidade Estadual de Maringá. Umuarama, PR. sandrabeserrab@gmail.com.
- 3 Doutora em Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá, 2009. Professora do Departamento de Tecnologia. Universidade Estadual de Maringá, Umuarama, PR. camiladasilva.eq@gmail.com.

Recebido em: 03/08/2015 - Aprovado em: 17/12/2015 - Disponibilizado em: 31/05/2016

RESUMO: A esterificação é uma rota alternativa para produção de biodiesel, indicada para matérias primas com elevada acidez. É comumente realizada na presença de catalisadores ácidos, os quais apresentam taxas de reações lentas. Dessa forma, a utilização da catálise enzimática surge como uma opção promissora, tendo como atrativos a facilidade de separação do catalisador no produto final e a recuperação do mesmo no processo. O presente trabalho teve por objetivo avaliar a utilização da catálise enzimática na conversão dos ácidos graxos livres (AGLs) do óleo da polpa de macaúba. Os experimentos avaliaram o efeito do álcool, razão molar álcool/AGLs, temperatura, tempo de reação e percentual de catalisador. Os resultados obtidos reportam melhores conversões (~73%) com a utilização de metanol na reação, na proporção molar 2:1 (metanol/AGLs). O aumento da temperatura de 35 para 55 °C favoreceu significativamente ($p < 0,05$) a conversão em ésteres metílicos, no entanto, em 65 °C um decréscimo pode ser observado. A adição de catalisador ao meio reacional de 4 para 8% proporcionou maiores conversões dos AGLs para as reações conduzidas de 15 a 90 minutos. Contudo, nota-se que o aumento da concentração entre 8 e 10% não afeta a conversão para um tempo de reação de 120 minutos.

PALAVRAS-CHAVE: Esterificação. *Acrocomia aculeata*. Biodiesel.

ABSTRACT: The esterification is an alternative route for biodiesel production, indicated for raw materials with high acidity. It is commonly performed in the presence of acid catalysts, which exhibit slow reaction rates. Thus, the use of enzyme catalysis appears as a promising option, as having attractive ease of separation of the catalyst in the final product and recovery of the same in the process. This study aimed to evaluate the use of the enzyme catalyzing the conversion of free fatty acids (FFAs) oil macaúba pulp. The experiments evaluated the effect of alcohol, molar ratio alcohol/FFAs, temperature, reaction time and catalyst percentage. The results reported better conversions (~73%) with the use of methanol in the reaction in molar ratio 2:1 (methanol/FFAs). Increasing the temperature to 35-55 °C favored significantly ($p < 0.05$) conversion to methyl esters, however at 65 °C a decrease can be observed. The addition of catalyst to the reaction medium from 4 to 8% provided higher conversion of FFAs to reactions conducted in 15 to 90 minutes. However, it is noted that the increase in concentration between 8 and 10% did not affect the conversion to a time of 120 minutes of reaction.

KEYWORDS: Esterification. *Acrocomia aculeata*. Biodiesel.

1 INTRODUÇÃO

O biodiesel é considerado uma alternativa interessante ao diesel advindo do petróleo, com grande interesse mundial. Suas vantagens em reduzir as emissões de gases do efeito estufa por ser limpo, renovável e facilmente degradável, fizeram com que sua produção e utilização fossem obrigatórias nos dias de hoje (DAI *at al.*, 2014a).

Países como o Brasil, com uma tradição de fornecimento de energia renovável e com muitas diferenças regionais de clima e solo, desempenham um papel fundamental na produção de biodiesel, no entanto, o desafio é conciliar a expansão de áreas para a produção de alimentos, plantas oleaginosas e produtos florestais com um uso ordenado e sustentável do espaço agrícola para atender a demanda atual e futura do mercado (BERTON *at al.*, 2013).

Diferentes oleaginosas podem ser usadas para a produção de biodiesel e a escolha da matéria-prima deve ser com base em considerações técnicas e econômicas para um processo sustentável. Assim, a fim de aumentar a competitividade comercial do biodiesel, para garantir a disponibilidade de petróleo e melhorar a utilização dos recursos regionais, espera-se que culturas oleaginosas não comestíveis aumentem a sua participação na cadeia produtiva do biodiesel (AGUIEIRAS *at al.*, 2014; IHA *at al.*, 2014).

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) é nativa das florestas tropicais, podendo ser encontrada no cerrado brasileiro, principalmente no centro do país. O óleo produzido a partir de macaúba apresenta diversas aplicações industriais e energéticas, demonstrando um grande potencial para a produção de biodiesel (LOPES *at al.*, 2013; CÉSAR *at al.*, 2015). A partir de 2013, a palmeira começou a ser destinada à produção de biodiesel e seu uso vem crescendo gradativamente ao longo dos anos (CÉSAR *at al.*, 2015). No Brasil, o biodiesel é produzido partir de óleo de soja (ANP,

2014) que tem uma produtividade de cerca de 700 kg hectare⁻¹/ano. No entanto, a macaúba se destaca por apresentar uma alta produtividade que varia de 1500 a 5000 kg hectare⁻¹/ano (DÍAZ *at al.*, 2014; MICHELIN *at al.*, 2015).

Politi, Matos e Sales (2013) reportam que, além das perspectivas econômicas, os óleos vegetais devem apresentar propriedades físico-químicas específicas, tais como a viscosidade, ponto de fulgor, ponto de fluidez e estabilidade oxidativa. O óleo da polpa de macaúba desponta como promissor para a produção de biodiesel por apresenta características satisfatórias, tais como elevado teor de carotenóides, que atuam como antioxidantes e podem proporcionar melhor estabilidade oxidativa ao biocombustível (RAMOS *at al.*, 2007).

Segundo Díaz *at al.*, 2014 e Iha *at al.*, 2014 o índice de acidez no óleo da polpa de macaúba é elevado, entre, 65 a 112 mg de KOH g⁻¹, o que dificulta sua utilização para a produção de biodiesel em processo convencional utilizando catálise homogênea alcalina. De acordo com Machado *at al.* (2015) é de suma importância verificar a acidez do óleo a fim de atestar a qualidade do produto e desenvolver metodologia apropriada para produção de biodiesel.

A esterificação é utilizada como rota alternativa para modificação de óleo visando à produção de biodiesel, sendo indicada para matérias primas com elevada acidez. Comumente, essa reação é realizada utilizando catalisadores homogêneos ácidos, os quais apresentam baixas taxas de reações (LIU *at al.*, 2015; DI SERIO *at al.*, 2008). A utilização desses catalisadores demanda elevados custos de purificação dos produtos e os mesmos podem apresentar traços do catalisador não removido adequadamente, além disso, são altamente corrosivos (LÓPES *at al.*, 2015; ARANSIOLA *at al.*, 2014) e geram grande volume de efluentes (JIANG *at al.*, 2013).

Com intuito de solucionar esses problemas, a utilização de catálise enzimática, utilizando lipases imobilizadas, despontam como substituto promissor, por apresentar diversas vantagens, como produzir ésteres de ácidos graxos utilizando menor número de etapas de processo, com menor custo energético, visto que se elimina a etapa de lavagem com água e permite a reutilização do catalisador (NASARUDDIN; ALAM; JAMI, 2014; SKORONSKI *at al.*, 2010).

Dentro desse contexto, o presente trabalho objetivou avaliar a eficiência do uso da catálise enzimática na esterificação dos ácidos graxos livres (AGLs) do óleo da polpa da macaúba. Buscando tal propósito, a lipase imobilizada de *Candida antarctica* foi utilizada como catalisador e o efeito das variáveis de processo na conversão dos AGLs foi avaliado.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 MATERIAIS

O óleo da polpa da macaúba foi adquirido da Cocal – Brasil. A composição em ácidos graxos do óleo é apresentada no trabalho de Raspe *at al.* (2014), sendo que o mesmo apresentou 71,1±0,4% de ácidos graxos livres e 0,10±0,1% de água. Os álcoois, metílico e etílico, e a enzima Lipozyme® 435 foram adquiridos da Merck (99,9% de pureza) e Novozymes®, respectivamente. Nas demais etapas, no preparo e análise das amostras foram utilizados: etanol (95% de pureza), éter etílico, hidróxido de potássio, fenoltaleína e *n*-hexano obtidos da Anidrol.

2.2 REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO

As reações de esterificação foram conduzidas no Laboratório de Termodinâmica e Química de Alimentos da Universidade Estadual de Maringá –

Campus Umuarama - PR. Para a condução da mesma, utilizou-se aparato experimental constituído de balão de vidro com três bocas, empregado como reator, acoplado a condensador, o qual foi conectado a banho refrigerado (Marconi, MA 184). Para o aquecimento e agitação do meio reacional utilizou-se chapa de aquecimento (IKA® RCT basic), sendo a agitação fixa em 400 rpm. Previamente ao uso, a enzima foi ativada em estufa a 40 °C durante 1 hora. Decorrido o tempo de ativação da enzima, os substratos (óleo e álcool) foram adicionados ao balão e procedeu-se o aquecimento da mistura até a temperatura de reação. Atingida a temperatura, a enzima foi adicionada ao meio reacional, dando início à reação.

Ao final do tempo da reação, as enzimas foram removidas do meio reacional por filtração, com sucessivas lavagens com *n*-hexano. O filtrado foi submetido à centrifugação durante 10 minutos a 3500 rpm, sendo o sobrenadante transferido para frascos de vidro e levados à estufa com circulação de ar (80 °C), para evaporação do solvente, até peso constante.

O método Ca 5a-40 (AOCS, 1998) foi utilizado para determinação do teor de AGLs nas amostras e a conversão foi obtida por meio da Eq. 1.

$$\text{Conversão (\%)} = \frac{AGL_i - AGL_f}{AGL_f} \times 100 \quad (1)$$

onde: AGL_i = teor de AGLs inicial no óleo e AGL_f = teor de AGLs final na amostra do meio reacional.

O efeito das variáveis de processo foi avaliado por meio de dados de ANOVA, gerados pelo software Excel® e teste de Tukey, com intervalo de confiança de 95%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 EFEITO DA RAZÃO MOLAR ÁLCOOL/AGLS E VARIEDADE DO ÁLCOOL

O efeito da razão molar álcool/AGLs foi avaliado considerando razões molares de 1 a 4, cujos resultados são apresentados na Figura 1. A partir dos resultados verifica-se que as reações conduzidas com metanol proporcionaram melhores resultados em termos de conversão. Oliveira *at al.* (2010) reportam que a utilização de metanol proporciona conversões elevadas, devido à sua reatividade e capacidade de aumentar a velocidade da reação pelo fato de apresentar menor cadeia carbônica, comparando com o etanol. Rosset *at al.* (2013) avaliaram a eficiência do uso de metanol e etanol na esterificação enzimática do ácido oleico, utilizando a lipase *Candida antarctica*,

relatando melhores conversões com metanol. Ao analisar o efeito da razão molar, nota-se que entre as proporções avaliadas, foi constatado diferença significativa por meio de realização do teste de Tukey, para um intervalo de confiança de 95% ($p < 0,05$), para ambos os alcoóis estudados. Utilizando metanol, obteve-se aproximadamente 73% de conversão em ésteres metílicos, na razão molar equivalente a 2:1 (metanol:AGLs). Em relação ao emprego de etanol nas reações, constatou-se maior conversão (60%), sob razão molar de 1:1. Em seguida, com o aumento nas proporções molares de 2 para 4 observa-se um decréscimo nas conversões. A literatura reporta que o aumento da concentração de álcool em reações de esterificação enzimática reduz o rendimento da reação devido a inativação das enzimas (ISO *at al.*, 2001; HSU *at al.*, 2003; OLIVEIRA *at al.*, 2004).

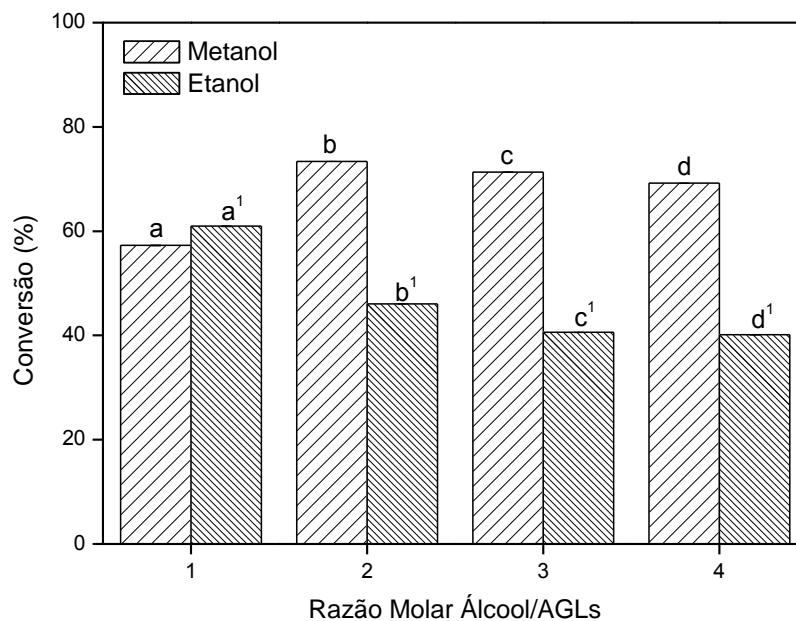


Figura 1 - Influência da razão molar na conversão dos AGLs sob temperatura de 55 °C, 4% de catalisador (em relação à massa de AGLs) e tempo de 1 hora. Repetições de caracteres, para cada álcool, representam que não houve diferença estatística ($p > 0,05$) entre as razões molares avaliadas

Fonte - Próprio autor

3.2 EFEITO DA TEMPERATURA

A avaliação do efeito da temperatura foi conduzida na faixa de 35 a 65 °C, utilizando metanol. A Figura 2 apresenta os resultados obtidos, demonstrando que a reação conduzida a 55 °C resultou na maior conversão dos AGLs (~79%), quando comparada às demais temperaturas ($p < 0,05$). Na temperatura de 65 °C constatou-se o decréscimo significativo ($p < 0,05$) na conversão dos AGLs. De acordo Wang *at al.* (2015) o aumento da temperatura, inicialmente, promove o contato da enzima com os substratos acelerando a reação, no entanto, a utilização de elevada

temperatura conduz a desnaturação do catalisador e a redução da sua atividade catalítica.

Segundo Huang *at al.* (2011), Dai *at al.* (2014b) e Sikora, Siodmiak e Marszall (2014) a faixa ótima de temperatura para a utilização da enzima Lipozyme® 435 é de 30 a 55 °C. Ao avaliar o efeito de diferentes temperaturas (45, 50, 55, 60 e 65 °C) sob a atividade enzimática da Lipozyme® 435, Duan, Du e Liu (2010) explicam que o acréscimo da temperatura proporciona o aumento da conversão dos AGLs em ésteres, no entanto, quando a temperatura atinge 60 °C a atividade da enzima decresce, bem como a conversão da reação.

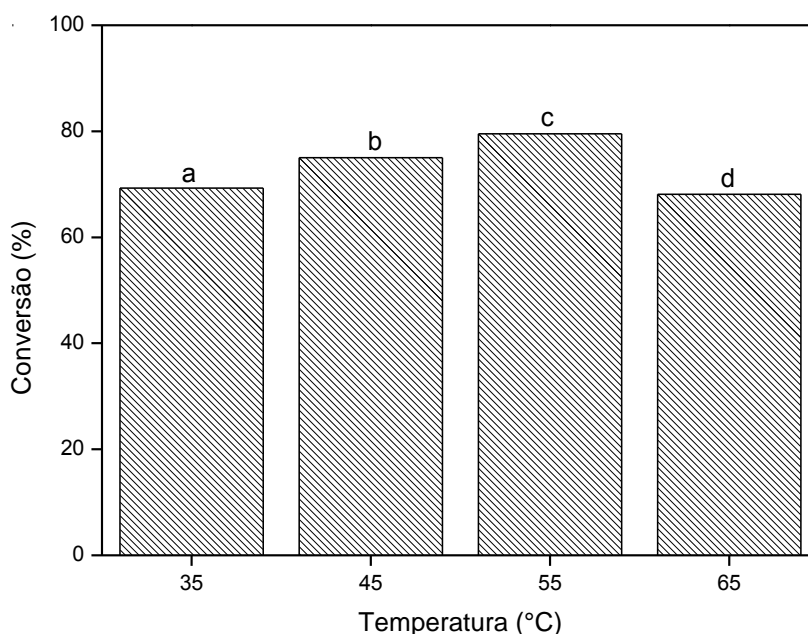


Figura 2 - Influência da temperatura na conversão dos AGLs sob razão molar metanol/AGLs de 2, 4% de catalisador e tempo de 1 hora. Repetições de caracteres representam que não houve diferença estatística ($p < 0,05$) entre as diferentes temperaturas

Fonte - Próprio autor

3.3 EFEITO DO PERCENTUAL DE CATALISADOR E TEMPO DE REAÇÃO

O efeito do percentual de catalisador e tempo de reação na conversão dos AGLs foi investigado

utilizando 4, 6, 8 e 10% de enzima (em relação à massa de AGLs), sendo os resultados obtidos apresentados na Figura 3, para os tempos de 15 a 120 minutos. Pode-se observar a partir da Figura 3,

aumento significativo na conversão dos AGLs com o acréscimo da concentração de enzima, de 4 a 8%, principalmente nos tempos iniciais da reação. Sendo que para os tempos de 90 e 120 minutos de reação, não é observada diferença significativa ($p < 0,05$) com o aumento do teor de enzima. Nessas condições, provavelmente, foi atingida a conversão de equilíbrio. A adição de 8 e 10% de catalisador apresentou resultados semelhantes ($p < 0,05$) para todos os tempos reacionais. Zhong *at al.* (2013) explicam que o aumento da percentagem de enzima melhora a interação com o substrato, aumentando a taxa de conversão dos AGLs, contudo, quando há um excesso de catalisador, o mesmo não entra em contato total com os substratos (álcool/AGLs).

A conversão máxima observada na Figura 3 foi de aproximadamente 89% obtida utilizando 8% de catalisador e 90 minutos de reação, sendo que este resultado pode ser comparado com dados utilizando do trabalho de Colonelli e Silva (2014) utilizando a resina Amberlyst® 15 como catalisador apresenta 90% de conversão dos AGLs em 12 horas de reação,

com a reação conduzida a 80 °C, utilizando razão molar (etanol:AGLs) de 4:1 e 20% de catalisador. Na esterificação homogênea com ácido sulfúrico como catalisador, Raspe *at al.* (2014) obtiveram 90% de conversão dos AGLs em 45 minutos de reação, utilizando razão molar óleo:metanol em 1:18, 2% de catalisador e tempo de reação de 1 hora.

Os resultados ainda podem ser comparados com dados do trabalho de Adachi *at al.* (2013) utilizando 10% da lipase imobilizada de *Candida antarctica*, sendo que, os autores obtiveram uma conversão próxima de 90%, na razão molar de 4 (metanol/AGLs), 30 °C em 6 horas de reação. Trubiano, Borio e Errazu (2007) avaliaram a esterificação etílica do ácido oleico para a mesma enzima, à 55 °C e obtiveram ~76% de conversão dos AGLs com 10% de catalisador, razão molar 1 (etanol/AGLs) e acréscimo de 0,2% de água na mistura reacional. Na esterificação dos ácidos graxos presentes em óleos residuais de fritura, Haigh *at al.* (2013) relatam conversões de 90% utilizando 1% de catalisador, razão molar de 6,2:1 (metanol/AGLs), 50 °C em 2 horas de reação.

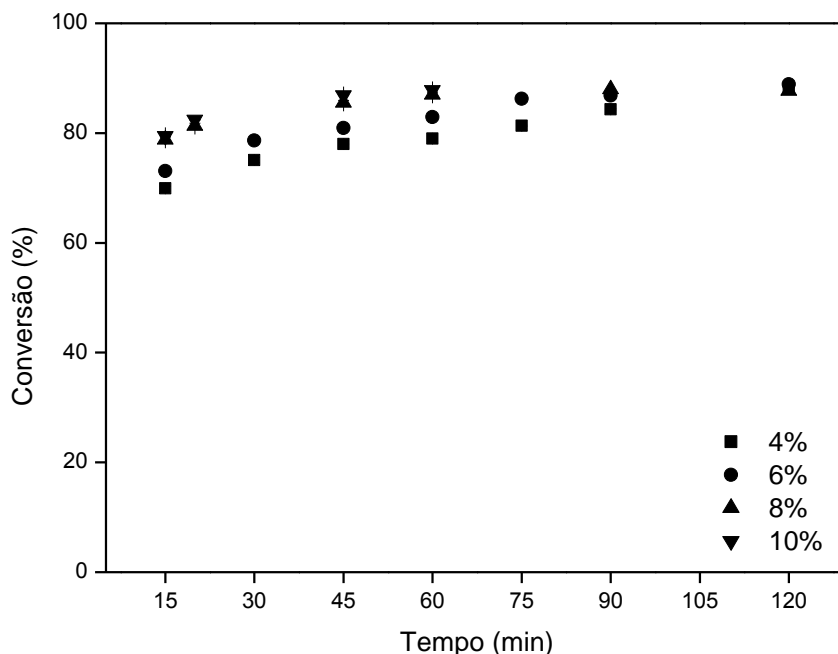


Figura 3 - Influência do percentual de catalisador e tempo de reação na conversão dos AGLs sob temperatura de 55 °C e razão molar metanol/AGLs de 2
Fonte - Próprio autor

4 CONCLUSÃO

A aplicação da catálise enzimática para conversão dos AGLs do óleo da polpa de macaúba é reportada neste trabalho. Os resultados obtidos demonstram melhores conversões, 89% aproximadamente, para as reações conduzidas com metanol, na razão molar de 2 (metanol/AGLs) e temperatura de 55 °C. Conclui-se que a utilização de catálise enzimática foi eficiente na conversão dos AGLs em ésteres metílicos de ácidos graxos, no qual, condições amenas no processo foram

empregadas, além de não serem constatados problemas na recuperação do catalisador, melhorando consequentemente a qualidade do produto final.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Fundação Araucária pelo suporte financeiro.

REFERÊNCIAS

- ADACHI, D. *at al.* Production of biodiesel from plant oil hydrolysates using an Aspergillusoryzae whole-cell biocatalyst highly expressing *Candida antarctica* lipase B. **Bioresource Technology**, v. 135, 410-416, 2013.
- AGUIEIRAS, E. C. G. *at al.* Biodiesel production from *Acrocomia aculeata* acid oil by (enzyme/enzyme) hydroesterification process: Use of vegetable lipase and fermented solid as low-cost biocatalysts. **Fuel**, v. 135, 315–321, 2014.
- ANP - AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.** - Rio de Janeiro: ANP, 2014.
- AOCS - **Official Methods and Recommended Practices of the American Oil Chemists' Society** (Method AOCS Ca 5a-40), ed. 5, Champaign, 1998.
- ARANSIOLA, E. F. *at al.* A review of current technology for biodiesel production: State of the art. **Biomass and Bioenergy**, v. 61, 276 - 297, 2014.
- BERTON, L. H. C. *at al.* Seed germination and estimates of genetic parameters of promising macaw palm (*Acrocomia aculeata*) progenies for biofuel production. **Industrial Crops and Products**, v. 51, 258-266, 2013.
- CÉSAR, A. S. *at al.* The prospects of using *Acrocomia aculeate* (macaúba) a non-edible biodiesel feedstock in Brazil. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 49, 1213-1220, 2015.
- COLONELLI, T. A. S.; SILVA, C. Esterificação heterogênea dos ácidos graxos livres do óleo da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata*) em etanol. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v. 35, 25-38, 2014.
- DAI, L. *at al.* Fruit quality of 12 provenances of *Idesia polycarpain* China. **Journal of Food, Agriculture and Environment**, v.12, n. 2, 802-807, 2014a.
- DAI, W. C. *at al.* Lipase-catalyzed synthesis of butyl propionate in solvent-free system: Optimization by response surface methodology. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 45, 2233-2237, 2014b.
- DI SERIO, M. *at al.* Heterogeneous catalysts for biodiesel production. **Energy Fuels**, v. 22, 207-217, 2008.
- DÍAZ, H. J. N. *at al.* Macauba oil as an alternative feedstock for biodiesel: Characterization and ester conversion by the supercritical method. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 93, 130–137, 2014.
- DUAN, Z. Q.; DU, W.; LIU, D. H. Novozym 435-catalyzed 1,3-diacylglycerol preparation via esterification in *t*-butanol system. **Process Biochemistry**, v. 45, 1923-1927, 2010.
- HAIGH, K. F. *at al.* Comparison of Novozyme 435 and Purolite D 5081 as heterogeneous catalysts for the pretreatment of used cooking oil for biodiesel production. **Fuel**, v. 111, 186-193, 2013.
- HSU, A. F. *at al.* Optimization of alkyl ester production from grease using a phyllosilicate sol-gel immobilized lipase. **Biotechnology Letters**, v. 25, n.20, 713-716, 2003.
- HUANG, J. *at al.* Enzymatic synthesis of monoacylglycerol citrate optimized by response

surface methodology. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v. 113, 609-615, 2011.

IHA, O. K. *at al.* Physicochemical properties of *Syagrus coronata* and *Acrocomia aculeata* oils for bio fuel production. **Industrial Crops and Products**, v. 62, 318-322, 2014.

ISO, M. *at al.* Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 16, n. 1, p. 53-58, 2001.

JIANG, Y. *at al.* Esterification of oleic acid with ethanol catalyzed by sulfonated cation exchange resin: Experimental and kinetic studies. **Energy Conversion and Management**, v. 76, 980-985, 2013.

LIU, W. *at al.* Biodiesel production from the esterification of fatty acid over organophosphonic acid. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 21, 893-899, 2015.

LÓPES, B. C. *at al.* Production of biodiesel from vegetable oil and microalgae by fatty acid extraction and enzymatic esterification. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 119, 706-711, 2015.

LOPES, D. C. *at al.* Economic feasibility of biodiesel production from Macauba in Brazil. **Energy Economics**, v. 40, 819-824, 2013.

MACHADO, W. *at al.* Evaluation of two fruit ecotypes (total and sclerocarpa) of macaúba (*Acrocomia aculeata*). **Industrial Crops and Products**, v. 63, 287-293, 2015.

MICHELIN, S. *at al.* Kinetics of ultrasound assisted enzymatic biodiesel production from Macauba coconut oil. **Renewable Energy**, v. 76, 388-393, 2015.

NASARUDDIN, R.; ALAM, Z.; JAMI, M. S. Evaluation of solvent system for the enzymatic synthesis of ethanol-based biodiesel from sludge palm oil (SPO). **Bioresource Technology**, v. 154, 155-161, 2014.

OLIVEIRA, D. *at al.* Optimization of enzymatic production of biodiesel from castor oil in organic solvent medium. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 113, 771-780, 2004.

OLIVEIRA, J. F. G. *at al.* Biodiesel production from waste coconut oil by esterification with ethanol: The effect of water removal by adsorption. **Renewable Energy**, v. 35, p. 2581-2584, 2010.

POLITI, J. R. S.; MATOS, P. R. R.; SALES, M. J. A. Comparative study of the oxidative and thermal stability of vegetable oils to be used as lubricant bases. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 111, 1437-1442, 2013.

RAMOS, M. I. L. *at al.* Bocaiuva (*Acrocomia aculeata* (Jacq.) Lodd) Improved Vitamin A Status in Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, 3186-3190, 2007.

RASPE, D. T. *at al.* Esterificação homogênea dos ácidos graxos livres do óleo da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata*). **Revista e-xacta**, v. 7, 45-54, 2014.

ROSSET, I. G. *at al.* Enzymatic Esterification of Oleic Acid with Aliphatic. **Catalysis letters**, v. 143, 863-872, 2013.

SIKORA, A.; SIÓDIAK, T.; MARSZALL, M. P. Kinetic resolution of profens by enantioselective esterification catalyzed by *Candida antarctica* and *Candida rugosa* lipases. **Chirality**, v. 26, 663-669, 2014.

SKORONSKI, E. *at al.* Estudo cinético da obtenção de ésteres utilizando enzima Lipozyme TL IM como catalisador. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 34, 897-902, 2010.

TRUBIANO, G.; BORIO, D.; ERRAZU, A. Influence of the operating conditions and the external mass transfer limitations on the synthesis of fatty acid esters using a *Candida antarctica* lipase. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, 716-722, 2007.

WANG, M. *at al.* Biodiesel with low temperature properties: Enzymatic synthesis of fusel alcohol fatty acid ester in a solvent free system. **Renewable Energy**, v. 83, 1020-1025, 2015.

ZHONG, H. *at al.* Studies on the lipase-catalyzed esterification of alkyl oleates in solvent-free systems. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 90, 114-117, 2013.