

Lucas Romagnoli<sup>a</sup>; Márcia Martinelli<sup>b</sup>

<sup>a</sup> – Bolsista de Iniciação Científica PIBIC – CNPq

<sup>b</sup> – Professora Doutora, Instituto de Química - Universidade Federal do Rio Grande do Sul

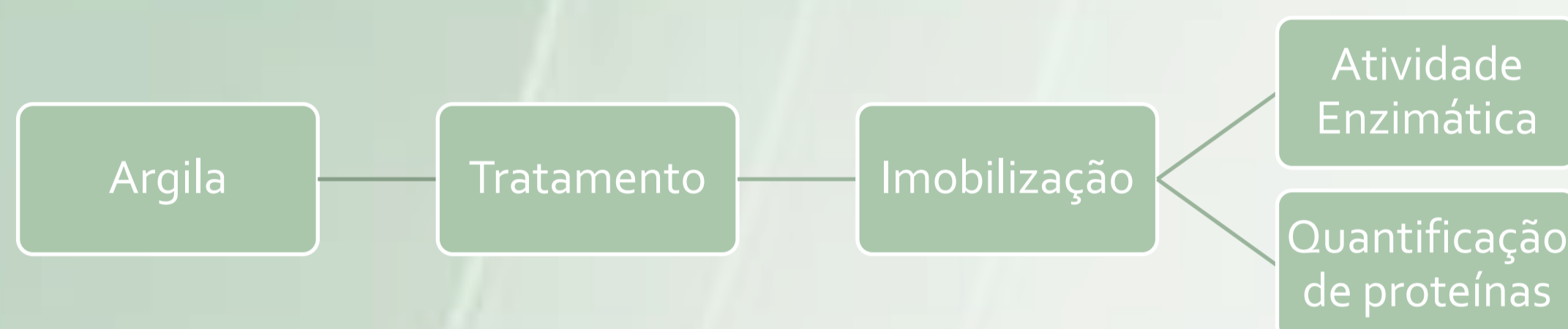


## Introdução

Óleos vegetais são matérias primas de ampla utilização na indústria química. Atualmente, sua principal aplicação está relacionada à produção de biodiesel, na busca por combustíveis alternativos e menos poluentes. As reações de hidrólise e alcoólise de óleos catalisadas por enzimas têm sido vistas como uma alternativa ambientalmente viável em relação aos métodos clássicos. Contudo, além de as enzimas serem solúveis no meio reacional, apresentam baixa estabilidade e custo elevado, tornando sua aplicação inviável em larga escala. Nesse contexto, a possibilidade de imobilizar enzimas em suportes insolúveis surge como uma forma para contornar essas desvantagens, uma vez que o processo confere estabilidade à enzima e permite sua reutilização. Neste trabalho foi estudada a imobilização da enzima lipase proveniente do microorganismo *Thermomyces lanuginosus* em argila MMT K10, avaliando a influência de agentes modificadores ao suporte e da concentração de enzima no processo de imobilização e o comportamento do biocatalisador na hidrólise do azeite de oliva.

## Metodologia

### - Imobilização:



A enzima foi imobilizada em três tipos de suporte:

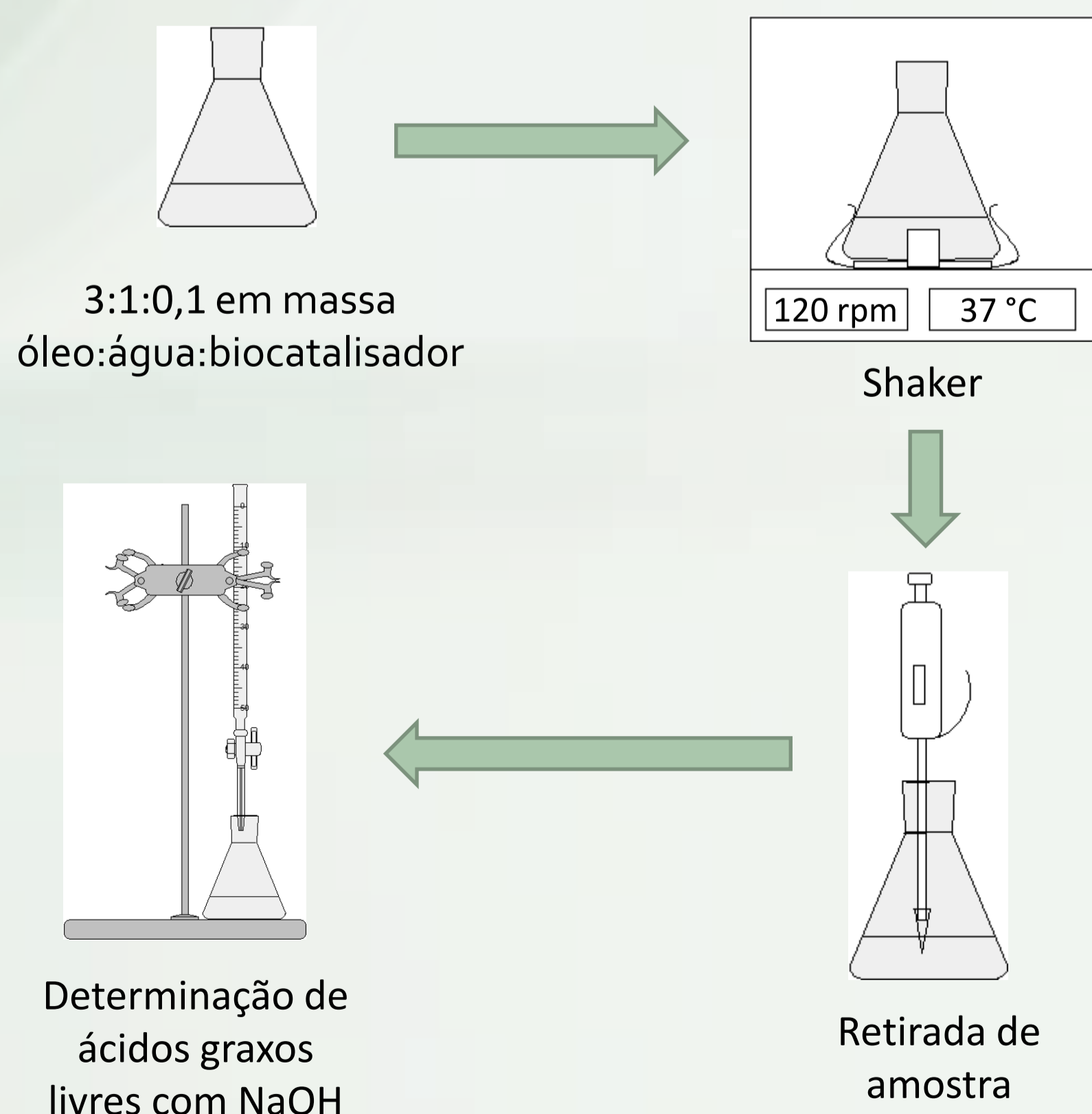
- argila apenas calcinada;
- argila calcinada e tratada com glutaraldeído;
- argila calcinada tratada com APTES e com glutaraldeído.

Foi conduzida em frascos eppendorf contendo 0,1 g de suporte, 1mL de solução tampão de pH 8 e quantidade de enzima variando entre 20, 40 e 80  $\mu$ L, à 37 °C por 1 hora, e posteriormente refrigerar à 4°C por 24 horas<sup>1</sup>.

A atividade enzimática foi determinada pela hidrólise do *p*-nitrofenilpalmitato em *p*-nitrofenol, cuja concentração é lida em 410 nm<sup>1</sup>.

A quantificação de proteínas foi realizada pelo método de Bradford, lido em 595 nm<sup>2</sup>.

### - Hidrólise de Óleos Vegetais:



## Resultados e Discussão

Os resultados obtidos no estudo da concentração de enzima são apresentados na tabela 1:

Suporte	Atividade (U/g)	Proteína (mg)	Atividade específica (U/mg)
Lipolase® livre	1955 U/mL	25 mg/mL	78,20
MMT-E20	8,66	0,21	43,82
MMT-Glu-E20	14,06	0,24	55,78
MMT-APTES-Glu-E20	13,16	0,23	63,34
MMT-E40	8,61	0,52	16,43
MMT-Glu-E40	12,93	0,68	19,00
MMT-APTES-Glu-E40	12,19	0,51	23,93
MMT-E80	13,96	0,43	32,09
MMT-Glu-E80	13,66	0,43	31,67
MMT-APTES-Glu-E80	14,98	1,26	11,85

É possível verificar que não ocorreram mudanças significativas na atividade catalítica quando maiores quantidades de enzima foram aplicadas na imobilização. De acordo com os resultados, o aumento da concentração da enzima acarretou o decréscimo da atividade do biocatalisador.

Os dados da hidrólise do azeite de oliva na presença dos diversos biocatalisadores são mostrados na tabela 2:

Catalisador	Tempo	% de hidrólise
MMT-E	1 h	1,47
MMT-Glu-E	1 h	1,64
MMT-APTES-Glu-E	1 h	1,96
MMT-E	6 h	2,23
MMT-Glu-E	6 h	2,77
MMT-APTES-Glu-E	6 h	2,31
Lipolase®	24 h	57,34
MMT-E	24 h	4,13
MMT-Glu-E	24 h	3,08
MMT-APTES-Glu-E	24 h	4,17
Lipolase®	48 h	69,98
MMT-E	48 h	5,38
MMT-Glu-E	48 h	4,35
MMT-APTES-Glu-E	48 h	5,40

Os dados indicam que, apesar da enzima estar imobilizada no suporte, as condições não foram satisfatórias para hidrólise do azeite, provavelmente devido a inativação da enzima ou falta de acesso do substrato ao sítio catalítico.

Outras pesquisas utilizando suportes e enzimas diferentes reportam resultados significativamente superiores, cujos resultados são próximos aos obtidos com a utilização da enzima livre, demonstrando que os resultados gerados foram baixos em relação ao esperado<sup>3, 4, 5</sup>.

## Conclusão

A variação na quantidade de enzima durante a imobilização não apresentou variações na atividade catalítica, mostrando que 20  $\mu$ L de solução de enzima foi suficiente para 100 mg de suporte;

Os melhores resultados para hidrólise do azeite foram obtidos com a utilização do biocatalisador produzido por adsorção e com o suporte modificado com APTES e glutaraldeído, embora sejam baixos em relação à enzima livre.

Desta forma, é necessária a busca por condições que possibilitem a máxima atividade do biocatalisador e também o estudo de sua reusabilidade.

## Referências Bibliográficas:

- <sup>1</sup>SANJAY, G.; SUGUNAN, S. Acid Activated Montmorillonite: an Efficient Immobilization Support for Improving Reusability, Storage Stability and Operational Stability of Enzymes. J Porous Mater 2008, 15, 359-367.
- <sup>2</sup>BRADFORD, M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-dye Binding. Anal Biochem. 1976, 72, 248-154.
- <sup>3</sup>MURTY, V. R. et al. Hydrolysis of rice bran oil using an immobilized lipase from *Candida rugosa* in isooctane. Biotechnology Letters 2004, 26, 563-567.
- <sup>4</sup>LI, S. F.; WU, W. T. Lipase-immobilized electrospun PAN nanofibrous membranes for soybean oil hydrolysis. Biochemical Engineering Journal 2009, 45, 48-53.
- <sup>5</sup>GUPTA, S. et al. Lipase immobilization on Polysulfone globules and their performances in olive oil hydrolysis. International Journal of Biological Macromolecules 2010, 46, 445-450.