Óleos vegetais são matérias primas de ampla utilização na indústria química em diversas áreas, e atualmente sendo muito visados com relação à produção de biodiesel na busca de combustíveis alternativos. As reações enzimáticas de hidrólise e alcoólise de óleos têm sido vistas como uma alternativa viável ambientalmente aos métodos tradicionais, por não exigirem grandes quantidades de ácidos e bases fortes. Porém as enzimas, por serem solúveis no meio reacional e apresentarem baixa estabilidade, tem seu preço elevado, tornando-as inviáveis para utilização em larga escala. Nesse contexto estuda-se a possibilidade de imobilização de enzimas em suportes sólidos, o que torna o processo insolúvel no meio reacional. Os métodos tradicionalmente utilizados envolvem adsorção ou ligação covalente, para produção do catalisador. A enzima Thermomyces lanuginosus foi imobilizada em argila montmorillonita K-10 calcinada, em argila calcinada com glutaraldeído e em argila calcinada ativada com APTES (3-aminopropiltrietoxisilano) e glutaraldeído. O estudo realizado avaliou a quantidade de enzima utilizada para a imobilização pela caracterização do biocatalisador com relação à quantidade de proteína imobilizada e a atividade enzimática. Os biocatalisadores foram testados para reações de hidrólise do azeite de oliva. A reação padrão foi procedida utilizando 1 g dos biocatalisadores, 10 mL de água e 30 g de azeite de oliva. A monitoração da reação foi realizada através da retirada de 1 mL do meio reacional nos tempos de 1, 6, 24 e 48 horas de reação e titulação dos ácidos graxos livres. Foi estabelecida a quantidade de 20 μL de enzima para cada grama de argila como quantidade ideal para a imobilização. Com esse resultado foi obtido 5,4% de hidrólise do azeite de oliva utilizando o biocatalisador sintetizado através da imobilização da enzima em argila calcinada ativada com APTES e glutaraldeído.