

Área: Engenharia de Alimentos

AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE TÉRMICA E OPERACIONAL APÓS A IMOBILIZAÇÃO DA LIPASE CALB EM XEROGEL OBTIDA PELA TÉCNICA DE SOL-GEL

**Katarine Levandoski, Aline Ficanha, Angela Antunes, Mateus Bopsin, Rogério Dallago
Marcelo Mignoni***

*Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos,
Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Campus Erechim, RS*

**E-mail: katarinelevandoski@gmail.com*

RESUMO – Enzimas são biocatalisadores com ampla aplicação em diversos tipos de reações, como reações de esterificação, interesterificação, hidrólise entre outras, porém, o custo elevado das enzimas solúveis é um dos limitadores de sua aplicação, pois após o processo estas são descartadas impossibilitando seu reuso e consequentemente se tornando economicamente inviável. O objetivo do trabalho foi imobilizar a lipase de *Candida antarctica* B em xerogel obtido pela técnica de sol-gel utilizando como aditivo o líquido iônico brometo de 1-octil-3-metilimidazólio, e avaliar sua capacidade de estabilidade operacional. As análises foram empregadas através da reação de esterificação do oleato de etila, na qual enzima imobilizada em xerogel utilizando líquido iônico como aditivo pode ser utilizado até 8 vezes, considerando sua atividade residual igual ou superior a 50%.

Palavras-chave: Imobilização, lipase, líquido iônico, sol-gel.

1 INTRODUÇÃO

A lipase é uma enzima que possui uma ampla variedade de aplicações e por isso se torna importante para várias áreas industriais, como por exemplo, na indústria alimentícia, química fina e na indústria farmacêutica, além de catalisar múltiplas reações tais como esterificação, transesterificação e hidrólise. Porém o uso dessas enzimas na sua forma livre se torna inviável. Este fato se deve a alguns fatores como a baixa atividade catalítica, a baixa estabilidade operacional, dificuldade na separação da mistura dos reagentes, contaminação, impossibilidade de reuso entre vários outros. As lipases podem ser aplicadas de forma mais eficiente e econômica através do processo de imobilização, que melhora a sua atividade e estabilidade térmica e operacional (SOUZA, 2012; ZARCULA et al., 2010).

Desta forma diversos métodos de imobilização são propostos pela literatura, como por exemplo, a técnica sol-gel, que se destaca por possuir características promissoras. A imobilização de enzimas no interior de matrizes produzidas pelo processo de sol-gel é uma técnica muito vantajosa, pois preserva a atividade enzimática e evita a sua lixiviação (ALFAYA e KUBOTA, 2002). Contudo, este processo apresenta alguns inconvenientes

pois durante a etapa de formação do gel, a enzima pode perder sua estabilidade e seu poder catalítico. Com isso é comum o uso de aditivos a fim de minimizar os efeitos negativos causados pelas interações químicas na formação do suporte. O emprego de líquidos iônicos como aditivo é recente, mas já apresenta potencialidade no processo de imobilização como o aumento da estabilidade operacional da enzima e consequentemente permitindo o seu reuso (SOARES et al., 2006; SOUZA et al., 2010).

2 MATERIAL E MÉTODOS

A enzima utilizada na imobilização foi a lipase de *Candida antarctica* B (Lipozyme) adquirida na forma liofilizada da empresa Novozymes Latin América Ltda. Para a imobilização foram utilizados álcool etílico PA (Merck), tetraetilortosilicato (Aldrich), ácido bromídrico hidróxido de amônio (Quimex), líquido iônico brometo de 1-octil-3-metilimidazólio que foi sintetizado com 1-metilimidazol (Aldrich), 1-bromo-octano (Aldrich), acetonitrila (Sigma-Aldrich).

2.2 Métodos

A lipase foi imobilizada de *Candida antarctica* B (CALB) foi imobilizada de acordo com o método descrito por Ficanha et al. (2015). Em um béquer adicionou-se 5 mL de tetraetilortosilicato (TEOS) dissolvidos em 5 mL de álcool etílico absoluto e 1,61 mL água destilada em uma proporção molar de (1:4:4) e 3 gotas de ácido bromídrico. A mistura ficou sob agitação por 90 min, 40 °C, 180 rpm. A esta solução obtida, adicionou-se a solução enzimática, e o aditivo líquido iônico. A mistura foi mantida em condições estáticas por 24 h para a completa condensação química. Posteriormente, o suporte foi condicionado em dessecador a vácuo por 48 h para completa secagem. Após este procedimento foram feitos os testes posteriores.

A atividade de esterificação da lipase imobilizada foi determinada pela capacidade de síntese do oleato de etila realizada através da reação do ácido oleico e etanol (razão molar 1:1). Esta reação foi iniciada pela adição da enzima imobilizada (0,1 g de suporte) ao meio reacional e a reação foi conduzida a 40 °C, 160 rpm, 40 min. A quantidade de ácido consumido foi determinado por titulação com NaOH 0,05 M (FERRAZ et al. (2012).

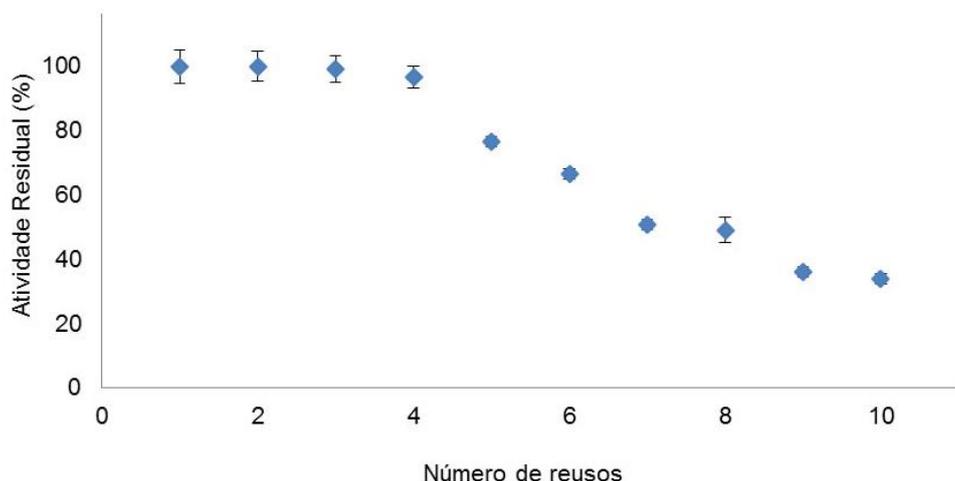
2.2.1 Estabilidade Operacional

A estabilidade operacional dos xerogéis imobilizados com líquido iônico e dos xerogéis imobilizados sem o uso de líquido iônico, foi determinada em reações de esterificação (ácido oleico e etanol, na razão molar de 1:1) em regime de bateladas consecutivas com a reutilização dos xerogéis imobilizados. Neste estudo, empregou-se em todas as bateladas a mesma massa de xerogel imobilizado (0,1 g). Foram realizadas bateladas de 40 min, na temperatura de 40 °C e agitação de 160 rpm (FICANHA, et al. 2015). Após cada batelada, o meio reacional (fase líquida) foi removido com o auxílio de uma pipeta, mantendo a fase sólida (xerogel imobilizado).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a estabilidade operacional do reuso do xerogel imobilizado com líquido iônico que foi determinada empregando a reação de esterificação do oleato de etila.

Figura 1 Atividade de esterificação residual da estabilidade operacional



Observa-se na Figura 1 que foi possível utilizar a enzima imobilizada em xerogel utilizando líquido iônico como aditivo por até 8 vezes, considerando a atividade residual igual ou maior que 50%.

Maury et al. (2005) e Orçaire et al. (2006) observaram que na imobilização por encapsulação da lipase em suportes aerogéis foi encontrado um aumento relativamente alto na segunda reutilização, no valor de 75%, quando comparado com a primeira, e que a atividade catalítica da enzima decresce para aproximadamente 60% após 11 reusos.

4 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente trabalho se demonstraram bastante satisfatórios provando que o processo de imobilização proporciona um aumento na estabilidade operacional em relação a enzima livre. Os resultados demonstram também o efeito positivo do líquido iônico como aditivo. As amostras apresentaram a possibilidade de reutilizar o xerogel imobilizado por até 8 vezes, considerando atividade residual de 50%.

5 AGRADECIMENTOS

FAPERGS;
CNPq;
URI - Campus Erechim;
SC&T/RS

6 REFERÊNCIAS

ALFAYA, A.; KUBOTA, L.T.A. Utilização de materiais obtidos pelo processo de sol-gel na construção de biossensores. **Química Nova**, v. 25, p. 835-841, 2002.

FERRAZ, L. R.; OLIVEIRA, D. S.; SILVA, M. F.; RIGO, E.; DI LUCCIO, M.; OLIVEIRA, J. V.; OLIVEIRA, D.; TREICHEL, H. Production and partial characterization of multifunctional lipases by *Sporobolomyces ruberrimus* using soybean meal, rice meal and sugarcane bagasse as substrates. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 1, p. 243-252, 2012.

FICANHA, A.M.M.; NYARI, N.L.D.; LEVANDOSKI, K.; MIGNONI, M.L.; DALLAGO, R.M.; Estudo da imobilização de lipase em sílica obtida pela técnica sol-gel. **Química Nova**, v. 38, p. 364-369, 2015.

MAURY, S.; BUISSON, P.; PERRARD, A.; PIERRE, A.C. Compared esterification kinetics of the lipase from *Burkholderia cepacia* either free or encapsulated in a sílica aerogel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 32p. 93–203, 2005.

ORÇAIRE, O.; BUISSON, P.; PIERRE, A.C. Application of silica aerogel encapsulated lipases in the synthesis of biodiesel by transesterification reactions. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 42: 106–113, 2006.

SOARES, C.M.F.; SANTOS, O.A.; DE CASTRO, H.F.; MORAES, F.F.; ZANIN, G.M. Characterization of sol-gel encapsulated lipase using tetraethoxysilane as precursor. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v.39,p. 69–76, 2006.

SOUZA, R.L.; BARBOSA, J.M.P.; ZANIN, G.M.; LOBÃO, M.W.N.; SOARES, C.M.F., LIMA, A.S. Partitioning of porcine pancreatic lipase in a two-phase systems of polyethylene glycol/potassium phosphate aqueous. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v.161, p. 288-300, 2010.

SOUZA, R.L.; RESENDE, W.C.; BARÃO, C.E.; ZANIN, G.M.; CASTRO, H.F. DE; SANTOS, O.A.A.; FRICKS, A.T.; FIGUEIREDO, R.T.; LIMA, A.S.; SOARES, C.M.F. Influence of the use of Aliquat 336 in the immobilization procedure in sol-gel of lipase from *Bacillus* sp. ITP-001. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 84, p.152-159, 2012.

ZARCULA C.; CORÍCI, L.; CROITORU, R.; URSOIU, A.; PETER, F.; Preparation and properties of xerogels obtained by ionic liquid incorporation during the immobilization of lipase by the sol-gel method. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 65 p. 79–86. 2010.