

## Estudo da imobilização de lipases em suporte hidrofóbico para aplicação na produção de biocombustíveis

Francine Fontanari Cordeiro<sup>1</sup>, Ana Paula Oliveira Costa, Rafael Rodrigues Marco Antônio Zachia Ayub  
 1-Aluna de Iniciação Científica, 2-Doutora, 3- Doutor 4-Professor Titular

### Introdução

O biodiesel é um combustível biodegradável, composto de ácidos graxos pela transterificação de triglicerídeos com álcoois de cadeias curtas. A presença de um catalisador é essencial na reação de transterificação. Normalmente, são usados em escala industrial processos alcalinos, porém geram uma quantidade significativa de impurezas. Por isso, visando melhores resultados, diversos estudos têm sido feitos na área de biocatalisadores, enzimas, que geram um produto com menos rejeitos alcalinos, menor produção de contaminantes, maior seletividade e bons rendimentos. Como os custos são altos diversos estudos tem sido feitos nessa área visando diminuir os custos desse processo. Nesse trabalho foi utilizada a lipase, enzima comumente encontrada na natureza. A ligação feita entre o suporte e a enzima é multipontual, ou seja, formam-se ligações covalentes que aumentam sua estabilidade térmica na reação. O suporte foi previamente ativado o que permite que as ligações ocorram entre os grupos aldeídos do suporte e os grupos aminos presentes na superfície da enzima. Além disso, as enzimas imobilizadas podem ser reutilizadas, diminuindo assim os custos do processo de formação de biodiesel.

### Objetivo

O objetivo deste trabalho é imobilizar as enzimas em suporte sólido através de ligação covalente multipontual, e verificar a estabilidade térmica em diferentes temperaturas.

### Material e Métodos

As enzimas utilizadas neste estudo foram *Thermomyces lanuginosus*, *Candida antarctica*, *Rhizomucor miehei* e imobilizadas no suporte Immobead 150.

Os métodos usados no experimento foram:

- ANÁLISE DE PROTEÍNA PELO MÉTODO DE LOWRY.
- ANÁLISE DA ATIVIDADE LIPOLÍTICA PELO MÉTODO. DO NITROFENIL PALMITATO (pNPP).
- ATIVAÇÃO DO SUPORTE PELO MÉTODO DE EPÓXIDOS A ALDEÍDOS.



### Metodologia

Para imobilização, 10 mg de proteína foram oferecidos a 1 g de suporte ativado e colocado em erlemeyers junto com 10 mL de tampão carbonato pH 10 1M e colocados no Shaker a 37°C 100rpm. Foram retiradas alíquotas periodicamente e analisadas pelo método de pNPP e lidas no espectrofotômetro.

Para a inativação, as enzimas imobilizadas foram ressuspensas em tampão e colocadas no banho maria a 40°C, 50°C e 60°C. Foram retiradas alíquotas, analisadas pelo método de pNPP e lidas no espectrofotômetro.

### Resultados e Discussão

#### Imobilização

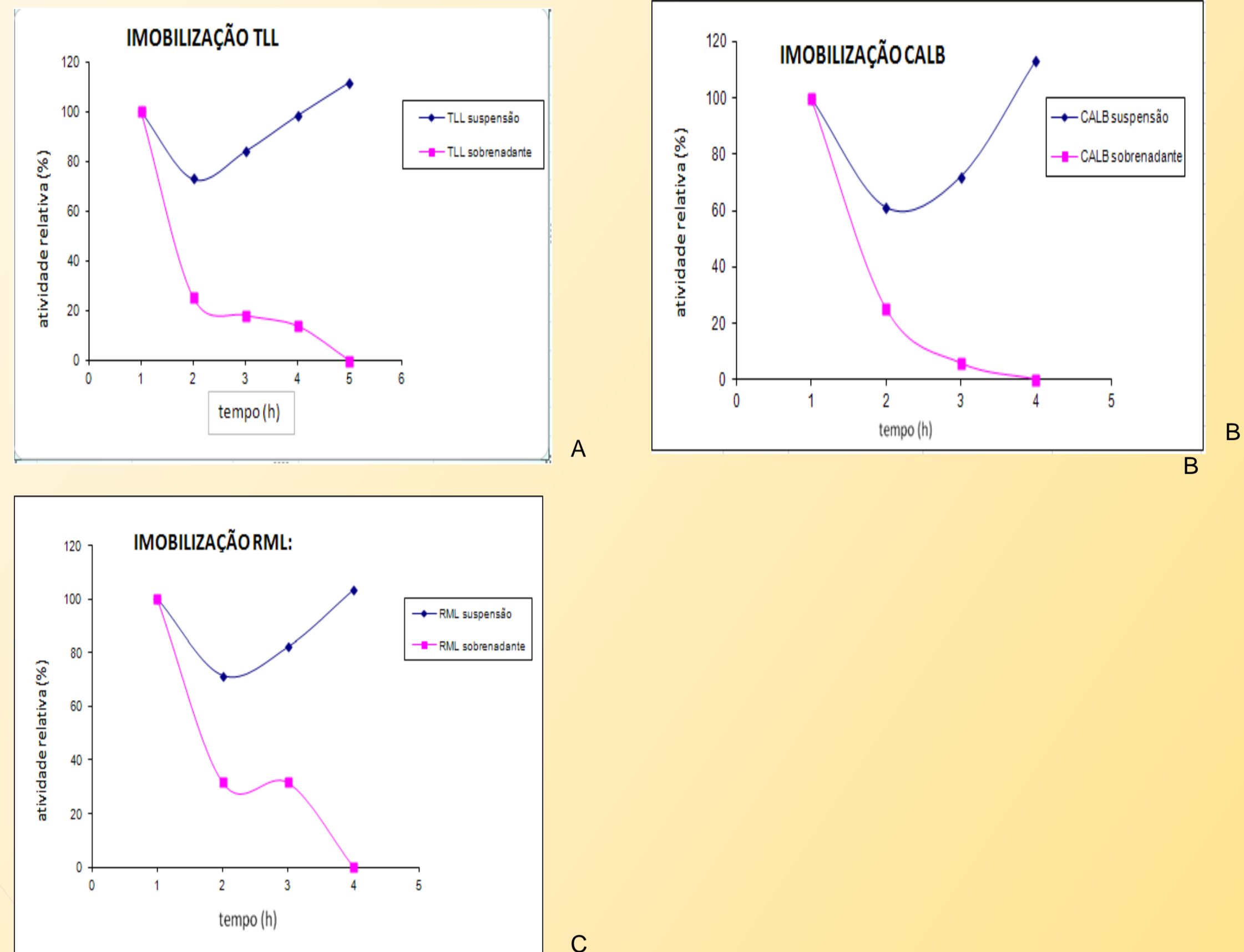


Figura 1 – Imobilização das enzimas em suporte sólido Immobead 150. (A) *Thermomyces lanuginosus* (B) *Rhizomucor miehei* e (C) *Candida antarctica*.

#### Inativação

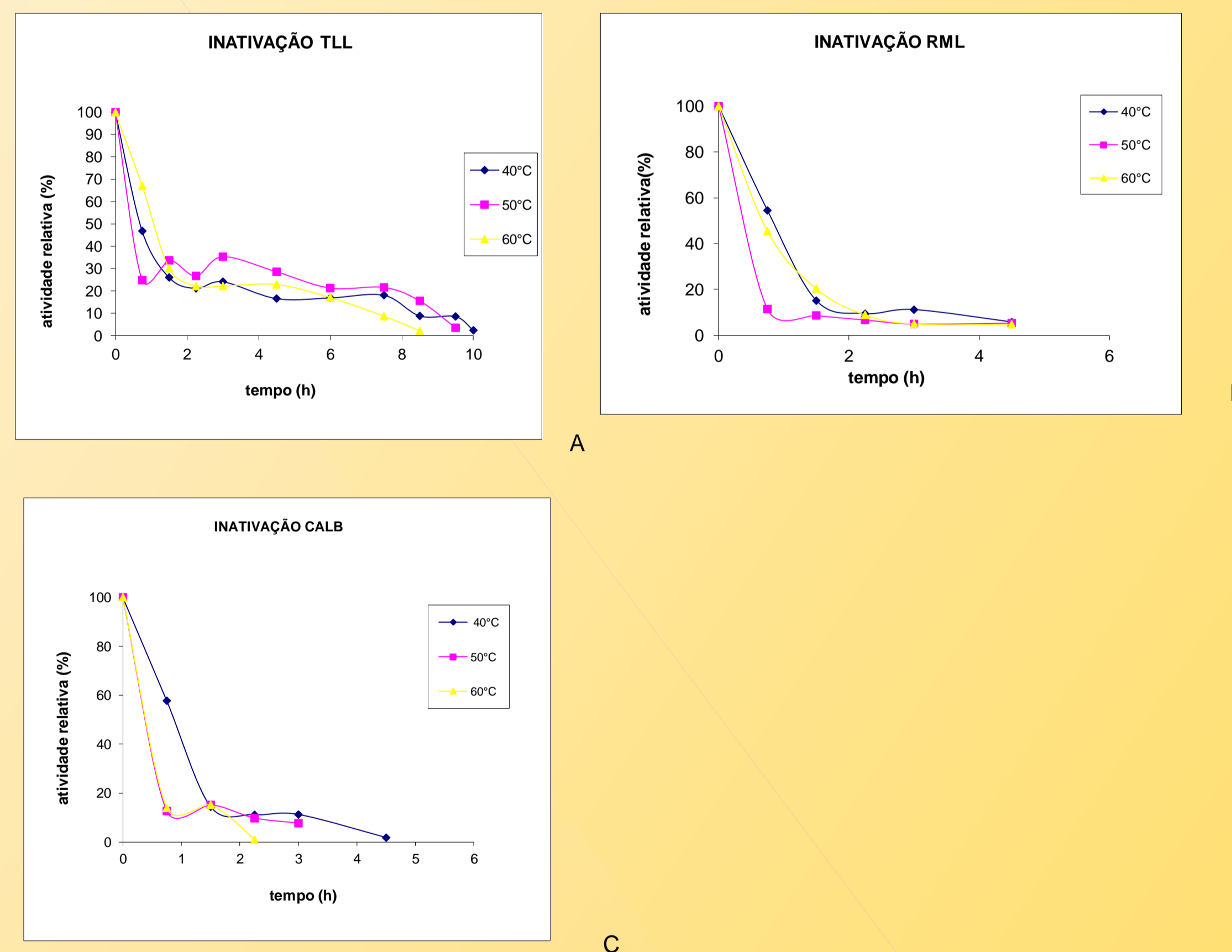


Figura 2 – Inativação das enzimas em diferentes temperaturas. (A) *Thermomyces lanuginosus* (B) *Rhizomucor miehei* e (C) *Candida antarctica*.

### Conclusões

As imobilizações com o suporte ativado foram todas efetivas, observamos isso nos gráficos, pois o sobrenadante chega a zero sem perda significativa de atividade na suspensão (suporte + enzima). Mostrando que as enzimas presentes na solução foram ligadas covalentemente no suporte. Os derivados preparados não apresentaram grande estabilidade térmica, necessitando melhorias no processo de imobilização. Numa reação de transterificação de biodiesel a utilização das enzimas imobilizadas como biocatalisadores ocorre a temperaturas brandas, desta forma não há necessidade de grande estabilidade térmica, e sim operacional, ou seja elas serem reutilizadas após a reação. Futuramente será feita a comparação do tempo entre as enzimas livres e imobilizadas.

### Agradecimentos

Os autores agradecem a Capes e ao CNPq pelo auxílio financeiro.