

Preparação de biocatalisadores por imobilização de lipases de *Rhizomucor miehei* e *Mucor javanicus* em suporte hidrofóbico para posterior aplicação em reações de síntese de ésteres de interesse industrial

*Flavia A. P. Lage¹, Larissa M. Toderó¹, Jaqueline J. Bassi¹, Maria Carolina C. Corradini¹, Adriano A. Mendes².

1. Estudante de IC da Universidade Federal de Alfenas – UNIFAL [*fva.arantes@gmail.com](mailto:fva.arantes@gmail.com)

2. Professor do Instituto de Química, UNIFAL, Alfenas/MG

Palavras Chave: Imobilização, lipase, biolubrificante.

Introdução

O objetivo deste trabalho foi imobilizar lipases microbianas por adsorção física em partículas mesoporosas de poli-metacrilato (PMA) para catalisar a síntese de oleato de isoamila por esterificação direta de ácido oleico e álcool isoamílico em meio orgânico. As propriedades catalíticas dos biocatalisadores preparados foram determinadas na hidrólise da emulsão de azeite de oliva. Neste estudo, três preparações de lipases foram empregadas (*Rhizomucor miehei* – RML; *Mucor javanicus* – MJL e *Thermomyces lanuginosus* – TLL). A preparação de lipase que apresentou maior concentração de proteína imobilizada foi selecionada e empregada na síntese do éster com propriedades lubrificantes. A influência dos fatores (concentração de proteína imobilizada, temperatura, concentração de biocatalisador e concentração de reagentes) foi determinada na síntese do éster. Em condições ótimas, foi realizada a estabilidade operacional (testes de reuso) do biocatalisador.

Resultados e Discussão

As três diferentes lipases foram inicialmente imobilizadas em partículas de PMA por adsorção física (tampão fosfato de sódio 5 mM e pH 7,0 por 18 h de incubação a 25 °C e agitação de 200 rpm em shaker orbital) empregando carregamento de proteína de 10 mg/g de suporte. Dentre eles, o biocatalisador preparado por adsorção de TLL foi o mais ativo na hidrólise da emulsão de azeite de oliva. TLL-PMA foi selecionado e, em seguida, foi verificada a influência da concentração inicial de proteína oferecida (5 a 200 mg/g de suporte) nas propriedades catalíticas dos diferentes biocatalisadores. Os resultados estão sumarizados na Tabela 1.

Tabela 1. Influência do carregamento inicial de proteína nas propriedades catalíticas da TLL imobilizada em partículas de PMA.

Carga de proteína (mg/g de suporte)	RI (%)	PI (mg/g de suporte)	AH (UI/g do suporte)	AE (UI/mg _{PI})
5	97,0 ± 0,8	4,9 ± 0,1	120,1 ± 2,0	24,5 ± 0,1
10	96,1 ± 1,9	9,3 ± 0,3	125,4 ± 6,8	13,5 ± 1,0
25	89,5 ± 1,4	20,5 ± 1,5	165,7 ± 7,7	8,1 ± 0,8
50	84,1 ± 3,3	39,8 ± 1,4	424,2 ± 21,6	10,1 ± 0,5
75	81,3 ± 0,6	63,7 ± 2,2	521,7 ± 22,4	8,2 ± 0,1
100	76,1 ± 3,2	77,3 ± 1,3	564,3 ± 24,9	7,3 ± 0,3
125	67,1 ± 1,7	90,4 ± 3,9	604,5 ± 37,1	6,4 ± 0,6
150	65,6 ± 0,4	100,4 ± 3,6	655,0 ± 8,2	6,5 ± 0,2
175	62,4 ± 1,8	102,4 ± 3,0	652,8 ± 14,6	6,5 ± 0,3
200	50,5 ± 2,3	101,6 ± 5,5	657,2 ± 18,7	6,5 ± 0,2

RI – Rendimento de imobilização; PI – Carga de proteína imobilizada; AH – Atividade hidrolítica; AE – Atividade específica

A adsorção de TLL seguiu o modelo de isoterma de Langmuir ($R^2 = 0,9743$). A capacidade máxima de adsorção foi de cerca de 100 mg de proteína/g de suporte e a atividade hidrolítica de cerca de 650 UI/g foi alcançada empregando carregamento de proteína de 150 mg/g de suporte (Tabela 1). Nas condições ótimas de reação, a conversão máxima em éster da ordem de 85% foi alcançada após 30 min de reação sob agitação contínua (200 rpm), empregando 2500 mM de cada reagente (ácido oleico e álcool isoamílico) em um sistema isento de solvente, 45°C, 20% m/v do biocatalisador preparado utilizando 100 mg de proteína/g de suporte (Figura 1).

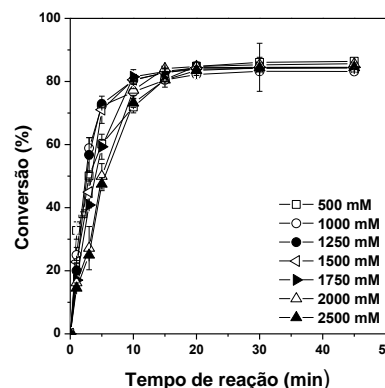


Figura 1. Efeito do tempo de reação na síntese de éster em diferentes concentrações de reagentes.

Nestas condições ótimas, o biocatalisador reteve 91,4% de sua atividade inicial após 30 ciclos de reação (Figura 2).

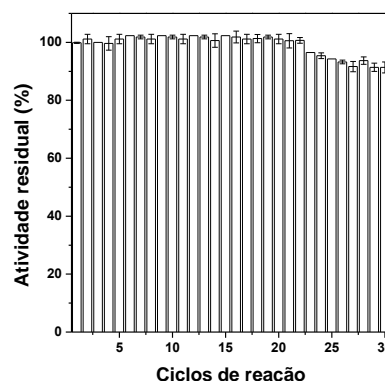


Figura 2. Estabilidade operacional de TLL-PMA.

Conclusões

PMA mostrou ser um suporte adequado para a imobilização de TLL – preparação de biocatalisadores altamente ativos em reação de hidrólise e síntese de éster.

Agradecimentos

CNPq (Processo 475289/2012–9), FAPEMIG (APQ–00968–12), CAPES e UNIFAL.