



SÍNTESE ENZIMÁTICA DE BIOSURFACTANTE POR ESTERIFICAÇÃO EM MEIO ORGÂNICO

ORTIZ, P.A.M.¹, GAMA, R.S.² e MENDES, A.A.²

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Minas Gerais

² Instituto de Química, Universidade Federal de Alfenas

E-mail para contato: paty_huu5@hotmail.com

Reações de esterificação conduzidas por catalisadores químicos clássicos (homogêneos ou heterogêneos) apresentam baixa seletividade e a necessidade de altas temperaturas de reação que causam a formação de subprodutos indesejáveis (GUMEL *et al.*, 2011). Estas desvantagens podem ser superadas pelo uso de lipases devido à alta seletividade e requerimento de condições brandas de reação. A grande desvantagem do uso de lipases na forma solúvel é a sua baixa estabilidade e difícil recuperação e reuso (ADLERCREUTZ, 2013). A imobilização consiste no confinamento de enzimas em suportes para posterior reuso do biocatalisador. Além disso, este processo pode melhorar a estabilidade térmica do biocatalisador e permite a aplicação de diferentes configurações de reatores (ADLERCREUTZ, 2013; MACHADO *et al.*, 2019). Diferentes suportes disponíveis comercialmente têm sido empregados na imobilização de lipases. Entretanto, o custo de alguns destes suportes é bastante elevado, o que impede a aplicação de lipases em processos industriais. Consequentemente, o uso de suportes obtidos a partir de resíduos agroindustriais torna-se uma alternativa bastante atrativa na imobilização e estabilização de lipases. Neste estudo, sílica de casca de arroz, um resíduo agroindustrial comumente encontrado no Brasil, foi funcionalizado com trietóxi(octil)silano – OCTES (Octil–SiO₂) para a obtenção de um suporte hidrofóbico e usado na imobilização por adsorção física de três lipases comerciais de *Thermomyces lanuginosus* (LTL), *Candida rugosa* (LCR) e *Pseudomonas fluorescens* (LPF). Os biocatalisadores preparados foram caracterizados e empregados na síntese de um biossurfactante por esterificação de ácido palmítico e DL-Isopropilidenglicerol (Solketal) em meio heptano.

Partículas de SiO₂ foram obtidas a partir de tratamento termoquímico de casca de arroz e funcionalizada com OCTES, conforme metodologia proposta por Machado *et al.* (2019). O suporte funcionalizado foi empregado na preparação de biocatalisadores por adsorção física das três lipases via incubação de 1 g do suporte em 19 mL de solução enzimática preparada em pH 7,0 (tampão fosfato de sódio 5 mmol L⁻¹) na relação suporte:solução enzimática de 1:20. O carregamento de proteína usado nas imobilizações foi fixada em 40 mg g⁻¹ de suporte. Os parâmetros de imobilização: *a*) concentração de proteína imobilizada (PI – mg g⁻¹ de suporte) e, *b*) atividade hidrolítica – hidrólise da emulsão de azeite de oliva (AH – U g⁻¹ de biocatalisador) foram determinadas como reportado por Machado *et al.* (2019). As reações de esterificação foram realizadas por incubação de 6 mL de meio de reação contendo concentrações equimolares de ácido palmítico e solketal (0,2 mol L⁻¹ de cada reagente) em meio de heptano, 300 U de atividade de cada biocatalisador preparado e 40 °C. As suspensões foram incubadas em shaker orbital (agitação mecânica – 200 rpm). Alíquotas do meio

reacional (0,1 mL) foram retiradas em tempos pré-determinados para a determinação do ácido graxo residual por titulação com solução de NaOH (20 mmol L⁻¹) e, conseqüentemente da conversão (%). A produtividade (Px - μmol min⁻¹ U⁻¹) foi também determinada conforme Machado *et al.* (2019).

A concentração de proteína imobilizada foi muito similar para as três lipases testadas (Tabela 1). Entretanto, a atividade hidrolítica do biocatalisador preparado por adsorção de LTL foi a maior (656 ± 24 U g⁻¹), seguido de LPF (533 ± 43 U g⁻¹) e LCR (320 ± 49 U g⁻¹). Com relação à síntese do éster, pode-se observar que a máxima conversão do ácido foi obtida para LCR. Porém, o tempo necessário para atingir o equilíbrio foi de 70 min. A reação catalisada por LTL e LPF requereu um menor tempo de reação (entre 40 e 50 min) para atingir máxima conversão da ordem de 63-64%. Dentre os sistemas reacionais avaliados, máxima produtividade foi obtida empregando LTL.

Tabela 1 – Parâmetros de imobilização dos biocatalisadores preparados e porcentagem de conversão determinada na síntese de biossurfactante.

Lipases	PI (mg g ⁻¹)	AH (U g ⁻¹)	Conversão (%)	Tempo (min)	Px (μmol min ⁻¹ U ⁻¹)
LTL	21 ± 2	656 ± 24	63 ± 2	40	10
LCR	22 ± 2	320 ± 49	75 ± 1	70	6
PFL	19 ± 2	533 ± 43	64 ± 1	50	8

Conseqüentemente, estudos subsequentes referentes à otimização da síntese do éster (biossurfactante) serão conduzidos com LTL imobilizada no suporte preparado da casca de arroz, um biocatalisador ativo em reações de hidrólise e síntese de éster.

PALAVRAS-CHAVE: Lipase imobilizada; Sílica da casca de arroz; Biossurfactante.

REFERÊNCIAS

- ADLERCREUTZ, P. Immobilisation and application of lipases in organic media, *Chem. Soc. Rev.*, v. 42, p. 6406-6436, 2013.
- GUMEL, A.M.; ANNUAR, M.S.M.; HEIDELBERG, T.; CHISTI, Y. Lipase mediated synthesis of sugar fatty acid esters, *Process Biochem.*, v. 46, p. 2079-2090, 2011.
- MACHADO, N.B.; MIGUEZ, J.P.; BOLINA, I.C.A.; SALVIANO, A.B.; GOMES, R.A.B.; TAVANO, O.L.; LUIZ, J.H.H.; TARDIOLI, P.W.; CREN, E.C.; MENDES, A.A. Preparation, functionalization and characterization of rice husk silica for lipase immobilization via adsorption, *Enzyme Microb. Technol.*, v. 128, p. 9-21, 2019.