

## **DESENVOLVIMENTO DE SUPORTE DE IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES E ESTUDO DAS CONDIÇÕES OPERACIONAIS PARA AS REAÇÕES DE HIDRÓLISE**

Deividi Luiz Paglia<sup>1</sup>, Aniela Pinto Kempka<sup>2</sup>, Darlene Cavalheiro<sup>3</sup>, Elisandra Rigo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Acadêmico (a) do Curso de Engenharia de Alimentos CEO - bolsista PIVIC/UDESC

<sup>2</sup>Professor Participante do Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química - CEO

<sup>2</sup>Professor Participante do Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química - CEO

<sup>3</sup>Orientadora, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química CEO –

[elisandrarigo@udesc.br](mailto:elisandrarigo@udesc.br)

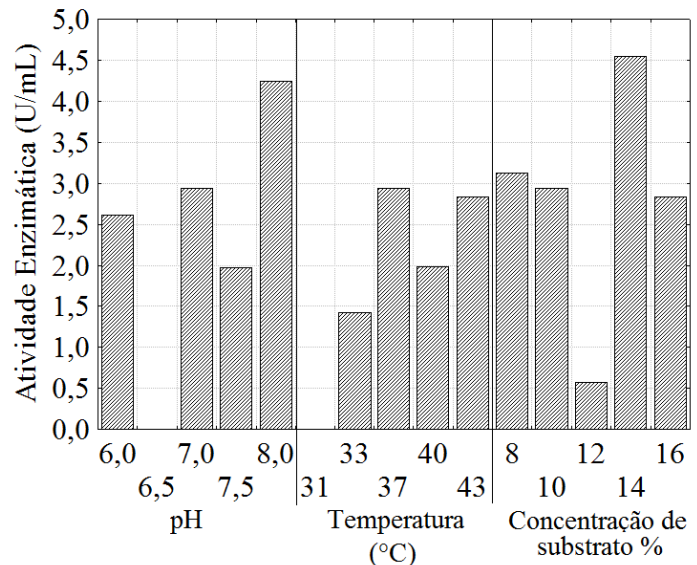
Palavras-chave: Lipase. Imobilização. Reações de síntese

O emprego de enzimas imobilizadas vem aumentando devido as vantagens que as mesmas oferecem como, por exemplo, a possibilidade de reuso. Neste sentido vários suportes são pesquisados, como a gelatina, que é uma proteína de origem animal, economicamente acessível e biocompatível com as enzimas, possui a capacidade de gelificação quando em contato com a água e calor e posterior resfriamento. As lipases destacam-se entre as principais enzimas utilizadas em biocatálise, pois apresentam capacidade de catalisar reações tanto em meio aquoso como em meio orgânico, onde o teor de água é limitado. Além disso, o elevado potencial de aplicação das lipases é justificado pela sua capacidade de utilização de uma ampla gama de substratos, sua estabilidade frente a temperatura, pH e solventes orgânicos e sua quimio-regio e enantiosseletividade. O potencial de aplicações industriais dessas enzimas abrange, além da indústria de alimentos, como aditivos (modificação de aromas), a química fina (síntese de ésteres), detergentes (hidrólise de gorduras), tratamento de efluentes (decomposição e remoção de substâncias oleosas), couro (remoção de lipídios das peles dos animais), farmacêutica e a área médica (remédios, digestivos e enzimas para diagnósticos). Assim, o objetivo deste projeto consiste em avaliar estratégias de imobilização em suporte de gelatina de lipase não comercial de *Penicillium crustosum* produzida em fermentação em estado sólido com farelo de soja, verificando as condições que favoreçam o complexo enzima-suporte. Para a determinação da atividade utilizou-se uma emulsão com azeite de oliva 10% (m/V) e goma arábica 5% (m/V) homogeneizados em tampão fosfato de sódio 100 mmol /L pH 7.0. A 18 mL desta emulsão foi adicionada 2 mL de solução enzimática, incubado por 30 minutos, a 37 °C e 160 rpm de agitação, sendo a reação interrompida com 20 mL de uma solução de acetona-etanol (1:1 v/v), para ser titulada com NaOH 0,1 mol.L<sup>-1</sup> até atingir pH 11. Juntamente com os meios reacionais, preparam-se os brancos utilizando-se o mesmo procedimento, porém sem a adição da enzima. A atividade enzimática foi definida como a quantidade capaz de liberar 1 mmol de ácido graxo por minuto nas condições descritas. Primeiramente, obteve-se a partir de testes prévios o suporte para imobilização, sendo este composto por 4,515 gramas de gelatina com *Bloom* de 270 g e 0,25 gramas de manitol, adicionados de 5 mL de água e submetidos a aquecimento até a liquefação. Após o resfriamento a, aproximadamente 37 °C, adicionou-se glutaraldeído e 1 mL de extrato enzimático. Com a solidificação do suporte, cortou-se em cubos de 3 mm de aresta. Na Figura 1 está o aspecto do suporte de imobilização. O suporte contendo o complexo enzimático foi submetido a reações de hidrólise visando determinar a atividade enzimática do complexo imobilizado. O objetivo dessa etapa foi avaliar as melhores condições em relação ao pH, temperatura e concentração de substrato (azeite de oliva). Para o pH, foram realizadas reações de

hidrólise em pH 6,0; 6,5; 7,0; 7,5 e 8,0 (temperatura fixa em 37 °C e concentração de substrato de 11 %). Para a temperatura, variou-se de 31 °C a 43 °C, com incrementos de 3 °C (pH fixo em 7,0 e concentração de substrato de 11 %) e para a concentração de substrato, as reações de hidrólise foram realizadas com 8 %, 10 %, 12 %, 14 % e 16 % (m/v) de azeite de oliva (temperatura fixa em 37 °C e pH fixo em 7,0). A Figura 2 mostra os resultados de atividade enzimática para os experimentos variando pH, temperatura e concentração de substrato. Verifica-se que os maiores valores de atividade enzimática foram obtidos para o pH 8,0 (4,25 U/mL), temperatura de 37 °C (2,94 U/mL) seguida da temperatura de 43 °C (2,84 U/mL) e concentração de substrato de 14% (4,55 U/mL). Comparando-se com a atividade da enzima livre (6,21 U/mL), obteve-se para o pH 8,0 um valor de atividade relativa de 68,44 %, para a temperatura de 37 °C, 47,34 % de atividade relativa e para a concentração de substrato de 14 %, 73,26 % de atividade relativa. O suporte desenvolvido para a imobilização permaneceu estável durante as reações de hidrólise. O estudo terá continuidade para reações com outros substratos oleosos (óleo de soja) e reações de esterificação.



**Fig.1.** Aspecto das etapas de produção do suporte de gelatina Bloom 270, manitol e glutaraldeído.



**Fig.2.** Atividade enzimática, do complexo de enzimas imobilizado, variando pH, temperatura e concentração de substrato.