



IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES REGIOSSELETIVAS EM MATRIZES SOL-GEL

Andréia Fátima Zanette¹, Edson Antonio da Silva², Lúcio Cardozo Filho³

RESUMO: A presença de diacilglicerol em alimentos, em contraste com triacilglicerol, desempenha um importante papel na redução dos níveis de triacilgliceróis e, em consequência, diminuem a massa corporal e gordura visceral nos humanos. Os processos enzimáticos são, em geral, preferidos aos métodos químicos porque as reações são realizadas em condições brandas, com baixa formação de subprodutos e alta velocidade. Neste contexto, este trabalho visa imobilizar e encapsular enzimas livres comerciais em matrizes hidrofóbicas sol-gel preparadas a partir de dois precursores, o tetraetilortossilicato (TEOS) e o tetrametoxissilano (TMOS) visando sua utilização na produção de diacilgliceróis a partir do óleo de palma. Os biocatalisadores foram caracterizados morfologicamente através da microscopia eletrônica de varredura, da qual se verificou que o TMOS é o melhor precursor para obtenção de biocatalisadores imobilizados.

PALAVRAS-CHAVE: Imobilização; Lipases, Sol-Gel.

INTRODUÇÃO

Os óleos comestíveis são formados basicamente por triacilgliceróis (TAG), sendo composto também por uma pequena quantidade de monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG).

Estudos recentes sobre as propriedades nutricionais e efeitos dietéticos dos óleos comestíveis sugerem que a presença de DAGs desempenha um importante papel na redução dos níveis de TAG e, em consequência, diminuem a massa corporal e gordura visceral nos humanos, prevenindo a obesidade e outras doenças relacionadas com o estilo de vida (Babicz, *et al.*, 2010).

Os DAGs são preferencialmente obtidos por processos enzimáticos, pois as reações são realizadas em condições brandas, com baixa formação de subprodutos e alta velocidade. Também oferecem vantagens ambientais e redução no consumo de energia, além disso, as lípases apresentam alta seletividade, incluindo seletividade estereoquímica e resultam em produtos de alta pureza e melhor qualidade (Eoma *et al.* 2010).

¹ Doutoranda em Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná. andreiazanette@yahoo.com.br

² Orientador, Professor Doutor do Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE, Toledo – Paraná.

³ Orientador, Professor Doutor do Curso de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá – UEM, Maringá – Paraná.

As enzimas podem ser adquiridas comercialmente imobilizadas ou pode-se aplicar técnicas de imobilização, tal como citado por Zarcula *et al.* (2010) que imobilizaram a lipase de *Pseudomonas fluorescens* (Amano AK) pelo método sol-gel utilizando tetrametoxossilano e trimetoxissilano com grupos alquila ou arila como precursores e líquidos iônicos como aditivos para a imobilização, resultando em biocatalisadores com alta eficiência catalítica. A atividade do biocatalisador foi totalmente recuperada depois da imobilização.

O encapsulamento através de sol-gel provou ser uma técnica versátil para a imobilização de uma grande variedade de biomoléculas (Kandimalla *et al.*, 2006). Além disso, estudos demonstraram que a atividade da enzima apresenta melhores resultados quando a secagem é realizada em meio supercrítico, também chamada de secagem por aerogel (Pierre e Buisson, 2001).

Diante deste contexto, o objetivo inicial deste trabalho foi imobilizar e encapsular enzimas livres comerciais em matrizes hidrofóbicas sol-gel preparadas a partir de dois precursores, o tetraetilortossilicato (TEOS) e o tetrametoxissilano (TMOS) visando sua utilização na produção de diacilgliceróis a partir do óleo de palma.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Na imobilização das enzimas lipase *Rhizopus oryzae* e Amano M em matrizes hidrofóbicas sol-gel, foram utilizados os seguintes precursores: tetraetilortossilicato (TEOS) e tetrametoxissilano (TMOS) como precursores de sílica. O preparo dos biocatalisadores baseou-se nas metodologias descritas por Macario *et al.*, (2009) e Soares *et al.*, 2006.

Os biocatalisadores imobilizados foram secados utilizando a tecnologia supercrítica (CO₂) a uma temperatura de 40 °C para evitar a desnaturação da enzima e a uma pressão de 100 bar por 2 horas.

A caracterização microestrutural dos biocatalisadores imobilizados foi realizada através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) em um microscópio Shimadzu SuperScan SS-550. Todas as micrografias foram obtidas das superfícies de fratura recobertas com ouro.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra as micrografias dos biocatalisadores livres (letras A e D) e imobilizados (letras B, C, E, F). Pode-se observar que a enzima lipase *Rhizopus oryzae* livre (A) possui uma forma geométrica definida, claramente visível. Ao se imobilizar esta enzima com TMOS (B) verificou-se uma estrutura porosa, com uma área superficial muito menor, diferente do ocorrido ao utilizar o precursor TEOS (C), em que a estrutura pareceu rígida, levando a conclusão que apenas o suporte está presente. Analisando estas microscopias verifica-se uma mudança muito grande na estrutura da enzima antes e depois de imobilizada, e não observando a presença da enzima ao utilizar o TEOS como precursor de sílica.

Ao analisar a lipase Amano M livre (D) verifica-se que ela apresenta uma estrutura esponjosa, bastante porosa, que manteve suas características após a imobilização por TMOS (E). Ao utilizar o TEOS (F), novamente verifica-se apenas a presença de uma estrutura rígida, que aparenta ser apenas do suporte.

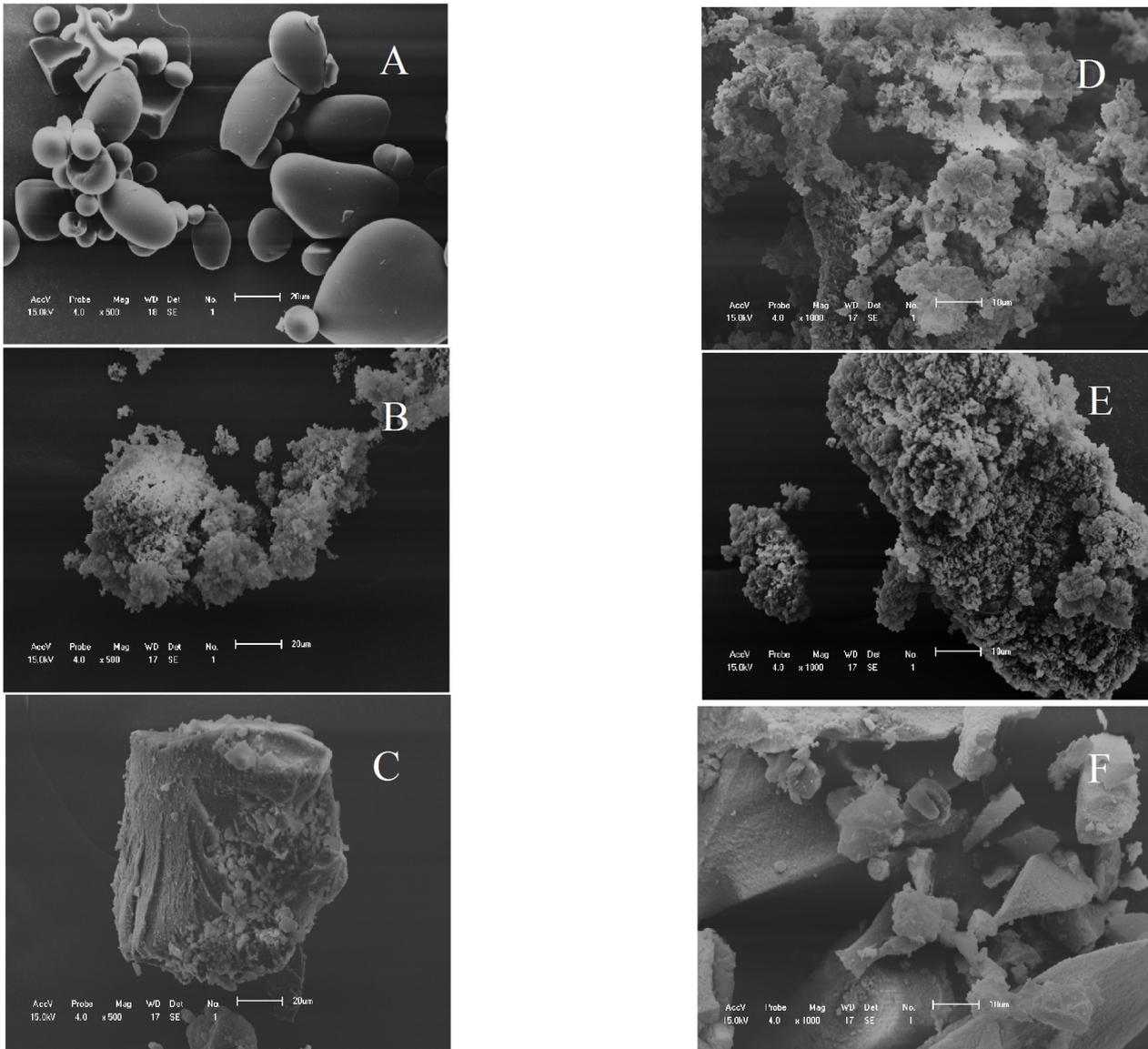


Figura 1: Micrografias eletrônicas dos biocatalisadores: (A) *Rhizopus oryzae* livre (500 X), (B) *Rhizopus oryzae* imobilizada com TMOS (500 X), (C) *Rhizopus oryzae* imobilizada com TEOS (500 X), (D) Amano M livre (1000 X), (E) Amano M imobilizada com TMOS (1000 X), (F) Amano M imobilizada com TEOS (1000 X)

4 CONCLUSÃO

As técnicas de imobilização de lipases aplicadas neste trabalho apresentaram características distintas. Visivelmente, a técnica que empregou o TEOS não obteve resultados satisfatórios. Já a técnica utilizando o TMOS apresentou uma característica esponjosa, que possivelmente tenha imobilizado grande parte da enzima. Análises mais detalhadas das características físico-químicas e morfológicas das enzimas devem ser realizadas a fim de se comprovar a eficiência da imobilização. Além disso, testar os biocatalisadores na reação de esterificação para obtenção de diacilgliceróis.

REFERÊNCIAS

- BABICZ, I.; LEITE, S.G.F.; SOUZA, R.O.M.A.; ANTUNES, O.A.C. Lipase-catalyzed diacylglycerol production under sonochemical irradiation. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 17, p. 4–6, 2010
- EOMA, T-K.; KONG, C-S.; BYUN, H-G.; JUNG, W-K.; KIM, S-K. Lipase catalytic synthesis of diacylglycerol from tuna oil and its anti-obesity effect in C57BL/6J mice. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 738–743, 2010.
- MACARIO, A.; MOLINER, M.; CORMA, A.; GIORDANO, G. Increasing stability and productivity of lipase enzyme by encapsulation in a porous organic–inorganic system. **Microporous and Mesoporous Materials**, v. 118, p. 334–340, 2009.
- PIERRE, A., BUISSON, P. Influence of the porous texture of silica gels on the enzymatic activity of lipases in esterification reactions, **Journal of Molecular Catalysis B Enzymatic**, v. 11, p. 639-647, 2001.
- SOARES, C. M.F.; SANTOS, O. A.; 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.
- V.B. KANDIMALLA, V.S. TRIPATHI, AND H.X. JU, Immobilization of biomolecules in sol-gels: biological and analytical applications. **Crit. Rev. Anal. Chem.** v. 36, p. 73–106, 2006.
- 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.