

PRODUÇÃO DE BIOCATALISADOR ENZIMÁTICO SUPORTADO EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS VISANDO APLICAÇÃO EM REAÇÕES DE INTERESSE INDUSTRIAL

Bruno Alves Sousa da Silva¹, Aline Mara Maia Bessa², José Cleiton Sousa dos Santos³, Luciana Rocha Barros Gonçalves⁴, Maria Cristiane Martins de Souza⁵

Resumo: Nanopartículas magnéticas de ferro (Fe_3O_4) (NPM) foram utilizadas como suporte para a imobilização de lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CALB) e posteriormente, aplicados para a produção do biodiesel. A escolha da NPM deve-se as suas propriedades magnéticas favorecerem a fácil separação da mistura reacional através do uso de magnetismo, favorecendo assim o reuso do biocatalisador. A escolha da enzima CALB deve-se a sua capacidade de atuar em diversas reações, como, hidrólises e transesterificações sendo altamente seletiva. As Nanopartículas foram produzidas pelo método de co-precipitação e o tamanho de partícula foi determinado através da técnica de difração de raios-X (DRX). Contudo, como a partícula produzida tratava-se de uma mistura de óxidos, procurou-se obter as NPM já modificada com g-aminopropiltriétoxissilano (APTS). A imobilização foi realizada na presença de tampão fosfato de sódio 25mM, pH 7,0, 25 °C. A produção do biodiesel foi realizada por transesterificação utilizando óleo residual da fritura de pastéis de um restaurante (material previamente caracterizado) e etanol. Parâmetros como temperatura, razão molar e massa de catalisador foram modificados. A taxa de conversão foi determinada por análise de CG/MS. A maior taxa de conversão (37,14%) foi obtida na seguinte condição: Ensaio 4 - Temperatura 27°C, Razão molar Óleo/Álcool = 1:15 e MassaCat = 0,06g.

Palavras-chave: Enzima. Nanopartículas Magnéticas. Transesterificação. Biodiesel.

¹ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, e-mail: bruno_sousa92@hotmail.com

² Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química, e-mail: alinembessa@gmail.com

³ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, e-mail: jcs@unilab.edu.br

⁴ Universidade Federal do Ceará, Departamento de Engenharia Química, e-mail: lrg@ufc.br

⁵ Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira, Instituto de Engenharias e Desenvolvimento Sustentável, e-mail: mariacristiane@unilab.edu.br

INTRODUÇÃO

As reações químicas podem ocorrer na presença de catalisadores ácidos, básicos ou biológicos. A enzima, que é um biocatalisador, pode ser considerada um catalisador "verde", pois atua reduzindo subprodutos indesejável, conferindo maior seletividade em condições mais brandas de reação. Um típico exemplo de enzima é a lipase B de *Candida Antarctica* (CALB), uma enzima capaz de atuar em reações como a transesterificação. Contudo, devido à enzima ser um catalisador homogêneo é necessário o uso de suportes que as retenham, mantendo suas características catalíticas, para assim ser reutilizada (CATERINA et al., 2009).

Nesse contexto, surgem as Nanopartículas magnéticas, que devido ao seu caráter de superparamagnetismo, permitem a esses materiais grande facilidade de separação de meios reacionais apenas com aplicação de um campo magnético. Representam uma nova alternativa aos suportes convencionais para a imobilização enzimática, possibilitando novas propriedades, como elevada área superficial, maior tolerância a temperatura, boa reatividade química e interações fortes com as enzimas (LEI et al., 2009).

O óleo residual que, muitas vezes é descartado em solos e corpos hídricos pode ser reutilizado para produção de biodiesel, um combustível renovável, biodegradável, menor emissor de poluentes, livre de enxofre e alternativo aos derivados do petróleo.

Assim, Nanopartículas Magnéticas de Ferro (Fe_3O_4) (NPM) foram utilizadas como suporte para a imobilização de lipase de *Candida antarctica* do tipo B (CALB) para fins em processos industriais, utilizando um resíduo de óleo da fritura de alimentos.

METODOLOGIA

Nanopartículas de ferro foram produzidas pelo método de co-precipitação (BARRETO et al., 2012) com análise feita por difração de raio-x. A lipase do tipo B de *Candida antarctica* solúvel (CALB, Novozym 525, EC 3.1.1.3) foi imobilizada em Nanopartículas Magnéticas seguindo metodologia apresentada por (SOUZA, 2013) pré-tradadas por APTS e ativadas por Glutaraldeído 25%. A imobilização foi realizada em presença do tampão bicarbonato de sódio 25mM, pH 7,0 a 25 °C e tempo de incubação de 1 h. Medidas de atividade hidrolítica (KORDEL et al., 1991) e quantificação de proteína foram realizadas (BRADFORDMM, 1976). Uma unidade de atividade (1 U) enzimática foi definida como sendo a quantidade de enzima capaz de hidrolisar 1 μ mol de pNPB/min.

Por fim, a transesterificação foi realizada com 0,6g do óleo fornecido, variando-se a razão molar álcool/óleo, massa do catalizador (CALB-NPM) e a temperatura. A reação foi conduzida em tubos plásticos (2ml) postos em um agitador orbital (150 rpm) durante 24 horas, como ilustra os dados apresentados na tabela 1. A análise da produção de ésteres foi realizada por Cromatografia Gasosa (CG/MS).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O suporte produzido e posteriormente analisado mostrou-se uma mistura de óxidos, que puderam ser testados observando seu poder magnético com uso de um ímã e através da técnica de difração de raios-X (DRX) que determina o tamanho de partícula.

Os ensaios de atividade hidrolítica e quantificação de proteínas comprovaram que houve imobilização e que o derivado (enzima imobilizada) se apresentou ativo. A taxa de conversão para ésteres variou, aproximadamente, de 2-38%, conforme o ensaio.

Tabela 1 – Condições de reação e taxa de conversão para ésteres

Ensaio	Temperatura (°C)	Razão molar	Massa _{Cat} (g)	Taxa de Conversão (%)
1	27,0	9	0,02	7,42
2	47,0	9	0,06	8,48
3	47,0	15	0,02	3,74
4	27,0	15	0,06	37,14
5	37,0	12	0,04	10,77
6	47,0	9	0,02	3,94
7	27,0	9	0,06	7,25
8	27,0	15	0,02	12,79
9	47,0	15	0,06	2,96
10	37,0	12	0,04	9,92
11	37,0	7	0,04	1,85
12	37,0	17	0,04	10,82
13	37,0	12	0,01	6,51
14	37,0	12	0,07	4,96
15	20,2	12	0,04	4,80
16	53,8	12	0,04	33,46
17	37,0	12	0,04	9,96

FONTE: (AUTORES, 2016)

De acordo com a tabela 1, o biocatalisador quando aplicado na reação de transesterificação produziu ésteres compatível com as características químicas obtidos da rota



pela química para o biodiesel, porém com maior potencial de redução de impactos ambientais. A maior taxa de conversão (37,14%) foi obtida no ensaio 4: Temperatura 27°C, Razão molar Óleo/Álcool = 1:15 e MassaCat = 0,06g.

CONCLUSÕES

Dos resultados obtidos, o biocatalisador apresentou-se viável em relação aos demais catalisadores, principalmente pela sua alta seletividade e facilidade de separação do meio reacional com uso de um campo magnético. Quando o biocatalisador foi aplicado na reação de transesterificação, produziu ésteres com maior taxa de conversão (37,14%) na seguinte condição: razão molar 1/15, massa do catalisador 0,06g e temperatura 27,0°C. O biocatalisador apresentou-se de grande potencial para produção de ésteres.

AGRADECIMENTOS

À Funcap, pelo apoio financeiro. Departamento de Química-UFC. Departamento de Engenharia Química-UFC e UNILAB

REFERÊNCIAS

BRADFORDMM, A. rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. **Anal Biochem**, v. 72, n. 7, p. 248–254, 1976.

CATERINA, G.C.M.N; ANDRADE, L.H.; TOMA, H.E. Enantioselective transesterification catalysis by *Candida antarctica* lipase immobilized on superparamagnetic nanoparticles. **Tetrahedron: Asymmetry**, v. 20, p. 2299-2304, 2009.

KORDEL, M. & SCHMID, R. D. (1991). Inhibition of the lipase from *Pseudomonas* sp. ATCC 21 808 by diethyl p-nitrophenyl phosphate; hints for one buried active site for lipolytic and esterolytic activity. **In Lipases: Structure, Mechanism and Genetic Engineering** (GBF monographs no. 16). pp. 385-388. Edited by L. Alberghina, R. Verger & R. D. Schmid. Weinheim: VCH.

LEI, L. et al. Study on immobilization of lipase onto magnetic microspheres with epoxy groups. **Journal of Magnetism and Magnetic Materials**, Elsevier, v. 321, n. 4, p. 252–258, 2009

SOUZA, Maria Cristiane Martins de. **Imobilização de lipase de *Candida Antarctica* do tipo B em nanopartículas magnéticas visando a aplicação na síntese de ésteres**. 2013.