

## Imobilização da lipase de *Pseudomonas fluorescens* em microesfera de fibroína para a transesterificação do óleo de soja

**Luísa de S. Ganzeli, Irlon M. Ferreira, Isac G. Rosset, Sergio A. Yoshioka, André L. M. Porto**

Instituto de Química de São Carlos

irlon@iqsc.usp.br

### Objetivos

Enzimas estão sujeitas à inativação por fatores químicos, físicos ou biológicos, podendo esta ocorrer quando estocadas ou durante o uso.<sup>1</sup> Este trabalho visou a adsorção e/ou a imobilização da lipase de *Pseudomonas fluorescens* sobre a superfície de esferas de fibroína. A enzima imobilizada foi utilizada na transesterificação do óleo de soja empregando etanol para obtenção do biodiesel etílico.

### Métodos/Procedimentos

Primeiramente, foi realizada a síntese do padrão do biodiesel por transesterificação do óleo de soja por catálise básica (NaOH 1% m/m em relação ao óleo de soja)<sup>2</sup>. O suporte para imobilização enzimática da lipase de *P. fluorescens* foi preparado a partir de 3,0 g do casulo do bicho da seda sendo transferido para uma solução de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2% m/m) pré-aquecida a 100 °C por 60 minutos em agitação. Em seguida, lavou-se o material com água (3 x 500 mL) e secou-se em estufa (70 °C) por 24 h. Posteriormente, o casulo foi desfiado e picotado. Em uma solução ternária de H<sub>2</sub>O:EtOH:CaCl<sub>2</sub> (8:2:1) dissolveu-se a fibroína na solução e preparou-se as microesferas seguindo o protocolo desenvolvido pelo Grupo de Bioquímica e Biomateriais-IQSC.<sup>3</sup> O material foi caracterizado por análises de microscopia eletrônica de varredura (MEV). De posse do suporte, misturou-se a lipase de *P. fluorescens* 30 % (m/m) em 5 mL de água destilada por agitação de 30 min. Logo em seguida a solução foi liofilizada por 12 h.

Com a enzima imobilizada em esferas de fibroína, realizou-se a reação de transesterificação com 150 mg do óleo de soja (Liza<sup>®</sup>) em 450 µL de etanol anidro e 35 % (m/m em relação ao óleo de soja) da lipase imobilizada (52,6 mg) em agitação de 132 rpm por 48 h à 32 °C. A reação foi filtrada e lavada com 7 mL de *n*-hexano.

### Resultados

Foi empregada a GC-FID para quantificação da reação de transesterificação por catálise enzimática, um método analítico foi desenvolvido bem como o preparo da curva analítica, usando a tricaprina como padrão interno. Segundo as análises por GC-FID (Figura 1) pode ser observado que a enzima manteve atividade mesmo imobilizada por adsorção física em esferas de fibroína já que o sucesso da imobilização depende não só da enzima mais da matriz a qual ela está imobilizada. Pelas integrais das áreas dos picos do cromatograma foi possível saber que a reação de transesterificação por catálise enzimática de *P. fluorescens* imobilizada em esferas de fibroína formou 35 % do biodiesel.

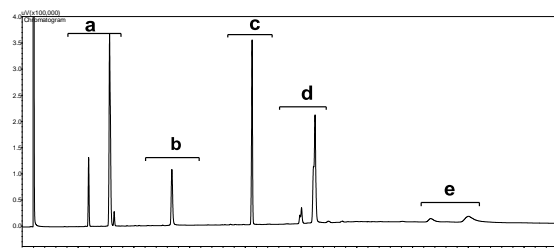


Figura 1: Cromatograma da transesterificação do óleo de soja via catálise enzimática por lipase de *P. fluorescens* imobilizada em esferas da fibroína. (a) Biodiesel etílico; (b) monoglicerídeo; (c) P.I.; (d) diglicerídeo; (e) triglicerídeo

### Conclusões

A reação de transesterificação do óleo de soja com lipase de *Pseudomonas fluorescens* imobilizada em esferas de fibroína apresentou resultados promissores para a produção de biodiesel.

### Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa PIBIC (LSG). À FAPESP e ao CNPq pelos financiamentos aos Projetos (ALMP).

### Referências Bibliográficas

- <sup>1</sup>Jegannathan, K. R.; et al. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2008, 28, 553-564. <sup>2</sup>Rosset, I. G., et al. *Applied Catalysis. A, General*, 2011, 396, 136-142. <sup>3</sup>Yoshioka, S. A., et al. *PI* 2011, 108.774-1.