

Imobilização da lipase de *Pseudomonas fluorescens* em esferas de fibroína para aplicação em reação de resolução cinética

Irlon M. Ferreira* (PG), Luisa de S. Ganseli (IC), Sérgio A. Yoshioka (PQ), André L. M. Porto (PQ)

Laboratório de Química Orgânica e Biocatálise, Instituto de Química de São Carlos, Campus de São Carlos, Universidade de São Paulo, Av. João Dagnone, nº 1100, Ed. Química Ambiental, Jardim Santa Angelina, 13563-120, São Carlos, SP, Brazil. e-mail: irlon@iqsc.usp.br, www.biocatalise.iqsc.usp.br

Palavras Chave: Biocatálise, Imobilização, Fibroína

Introdução

Apesar das vantagens de se utilizar enzimas em reações de síntese orgânica, elas estão sujeitas à inativação por fatores químicos, físicos ou biológicos, podendo ocorrer quando estocadas ou durante o uso ou reuso. Para que a catálise seja eficiente em um determinado processo é necessário proteger as enzimas do meio no qual são realizadas as reações, o que pode causar a sua inativação.¹ Frente a este problema, novas técnicas de imobilização têm sido desenvolvidas para fornecer estabilidade às enzimas. Este trabalho descreve a viabilidade da imobilização de lipase de *Pseudomonas fluorescens* em esferas de fibroína.

Resultados e Discussão

Inicialmente foi sintetizado o álcool racêmico (**1**) por reação de redução do 2-cloro-1-feniletanona com NaBH₄ em etanol sob agitação por 30 minutos a 0 °C e 1,5 h em temperatura ambiente. Posteriormente, foi realizado uma triagem de lipases comerciais, para encontrar a enzima mais eficiente na resolução cinética de **1** empregando acetato de vinila como doador de acila e *n*-hexano como solvente (130 rpm, 32 °C). Os resultados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1: Resultados obtidos pela resolução cinética por diferentes lipases não imobilizadas.

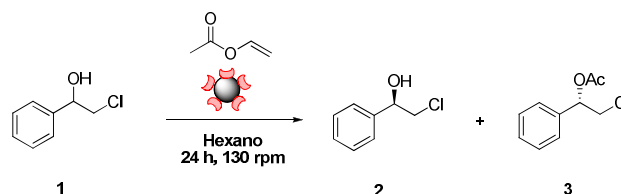
Reação ^a	Lipase	Tempo (h)	c (%)	e.e. (2)	e.e. (3)	E (%)
1	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	24	35	52	97	111
		48	48	87	93	78
2	<i>Candida cylindracea</i>	24	23	16	55	04
		48	23	16	55	04
3	<i>Rhizopus niveus</i>	24	--	--	--	--
		48	--	--	--	--
4	CAL-B	24	30	42	>99	>200
		48	44	77	97	154

^a Em tubos de eppendorf adicionou-se 1 mL de *n*-hexano e 20 mg de lipase para 50 mg do álcool racêmico. c = conversão. e.e. =excesso enantiomérico.

Foi transferido 3,0 g de casulo do bicho da seda para uma solução de 1 L de Na₂CO₃ a 2% pré-aquecida a 100 °C, permanecendo o material por 60 minutos. Em seguida, foi lavado com água destilada e deixou na estufa (70 °C) por 24 h. Posteriormente, o casulo foi desfiado e picotado. O material foi transferido para uma solução ternária de H₂O:EtOH:CaCl₂ (8:2:1) por 12 h em agitação. As esferas foram preparadas seguindo o protocolo

desenvolvido pelo Grupo de Bioquímica e Biomateriais-IQSC.² A princípio foi imobilizado apenas 10% (m/m) da lipase de *P. fluorescens* em esferas de fibroína utilizando glutaraldeído como ligante entre partícula e enzima, pela método de liofilização (12h).

A lipase imobilizada (10%) foi utilizada na reação de resolução do álcool racêmico **1** (130 rpm, 32 °C) (Esquema 1). Os resultados estão na Tabela 2.



Esquema 1.

Tabela 2: Resolução cinética do 2-cloro-1-feniletanol (**1**) pela lipase de *P. fluorescens* imobilizada (10%) em esferas de fibroína.

Reação ^a	Lipase imobilizada (mg)	Conv. (%)	e.e.(2)	e.e.(3)	E (%)
1	20	6	6	100	211
2	100	10	11	100	221
3	200	12	14	100	228

^a Em tubos eppendorf adicionou-se 1 mL de *n*-hexano e 50 mg do álcool racêmico para cada quantidade de lipase e manteve a reação em agitação por 24h.

Verificou-se que após a imobilização em esferas de fibroína, a lipase de *P. fluorescens* permaneceu ativa e com maior seletividade para o álcool (**2**) em relação à enzima livre. Porém os valores de conversão foram modestos. A próxima etapa é otimizar as condições de reação para obter melhores resultados de conversão e aplicar a outros substratos.

Conclusões

Os resultados apresentados indicam que a produção de suporte biopoliméricos (esferas de fibroína) além de apresentarem baixo custo, é uma alternativa viável na obtenção de lipases imobilizadas para serem utilizadas em processos biocatalíticos.

Agradecimentos

À FAPESP e ao CNPq pelo apoio financeiro ao projeto do laboratório. Ao CNPq pela bolsa de Doutorado (I.M.F.) e PIBIC (L.S.G.).

¹ Silva, R. L. de F. O. B.; et. al. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* **2008**, *28*, 642.

