



Universidade Estadual de Maringá  
Centro de Tecnologia  
Departamento de Engenharia de Produção

## **IMOBILIZAÇÃO DE CÉLULAS E ENZIMAS**

Danilo Manea Ribelato	RA107423
Vinicius Bertanha Perondi	RA107422

**Maringá, PR  
2021**

## **1. INTRODUÇÃO**

O uso de catalisadores de alto custo, como as enzimas, para acelerar e otimizar processos, requer a recuperação e a reutilização destas para tornar o processo economicamente viável. Isso é alcançado com a aplicação de enzimas na forma imobilizada. A estabilidade requerida também pode ser alcançada pela técnica de imobilização, uma vez que o processo pode alterar as propriedades da própria enzima, produzindo biocatalisadores com elevada atividade, especificidade e estabilidade. Dessa forma, a imobilização enzimática tem sido considerada, nos últimos anos, a técnica mais promissora para tornar competitiva a aplicação de enzimas em larga escala. (SOUZA, VERISSÍMO, et al).

## **2. REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 IMOBILIZAÇÃO ENZIMÁTICA**

Imobilização é um termo genérico empregado para descrever a retenção de uma biomolécula no interior de um reator ou de um sistema analítico. No caso das enzimas, a imobilização consiste no confinamento da proteína em um suporte sólido insolúvel em meio aquoso e em solventes orgânicos, e pode ser usada isolada ou em combinação com outras técnicas de estabilização de proteínas, considerada uma das ferramentas mais eficientes para alterar a especificidade, seletividade, atividade e estabilidade das enzimas (SOUZA, VERISSÍMO, et al).

Em comparação com as enzimas solúveis, as enzimas imobilizadas são mais robustas e mais resistentes a mudanças do ambiente reacional, incluindo influências de temperatura, pH e solventes orgânicos. Outras importantes vantagens das enzimas imobilizadas em comparação com as enzimas solúveis são: possibilidade de reutilização do biocatalisador; facilidade de separação do catalisador e do produto da reação e de interrupção da reação, quando se atinge um determinado grau de conversão; além da possibilidade de conduzir processos contínuos (SOUZA, VERISSÍMO, et al).

#### **2.1.1 MÉTODOS DE IMOBILIZAÇÃO**

Segundo Lopes (2018), as enzimas podem ser imobilizadas por diferentes métodos que podem ser classificados em dois grupos: aprisionamento e formação de ligação. Aprisionamento pode ser dividido em enredamento, encapsulamento e

microencapsulamento. Já as de ligação podem ser por adsorção, ligação covalente e ligação cruzada.

Enredamento: a enzima é imobilizada dentro de uma malha polimérica. A proteína é adicionada a uma solução contendo a unidade monomérica do polímero, e então esta solução é polimerizada, mantendo-a presa em uma matriz solidificada.

Encapsulamento: Este método imobiliza a enzima em cápsulas. A utilização do polissacarídeo alginato como suporte é uma das formas mais comuns de encapsulamento.

Microencapsulamento: consiste na imobilização de enzimas em microcápsulas. É uma técnica versátil, porque é possível incluir mais de uma enzima no mesmo sistema.

Adsorção: interação entre a enzima e o suporte por ligações fracas. Neste caso, as ligações químicas entre os componentes são do tipo van der Waals, ligações de hidrogênio, forças eletrostáticas e forças hidrofóbicas. Essa é uma das técnicas mais simples e mais fáceis.

Ligação Covalente: interação entre a enzima e o suporte por ligações covalentes. Como a ligação formada é forte, a enzima imobilizada obtida por este método é estável, isto é, não é liberada do suporte em presença do substrato ou de soluções de alta concentração iônica.

Ligações Cruzadas: são covalentemente ligadas umas às outras utilizando reagentes como o glutaraldeído, por exemplo, que formará ligações cruzadas com a enzima, tornando-a insolúvel no meio reacional. Não há a necessidade de utilizar um suporte.

## **2.2 BIODIESEL**

As primeiras referências ao uso de óleos vegetais no Brasil como combustível datam da década de 1920. A partir dos anos 70, quando o crítico cenário energético mundial nos instigou a reduzir a dependência de petróleo importado, as pesquisas sobre óleos vegetais ganharam novo impulso. Em 1980, a Resolução nº 7, do Conselho Nacional de Energia, instituiu o Programa Nacional de Produção de Óleos Vegetais para

Fins Energéticos (Proóleo). Entre outros objetivos, pretendia substituir óleo diesel por óleos vegetais em mistura de até 30% em volume, incentivar a pesquisa tecnológica para promover a produção de óleos vegetais nas diferentes regiões do país e buscar a total substituição do óleo diesel por óleos vegetais.

O biodiesel é um biocombustível líquido considerado uma fonte de energia renovável, que substitui o uso de combustíveis fósseis. É produzido a partir de fontes vegetais ou animais. Por isso, é um produto natural e biodegradável com baixo teor poluente. Representa uma alternativa para substituir os combustíveis derivados do petróleo, os quais são poluentes.(MAGALHÃES, 2019).

O biodiesel é uma mistura de ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos. Para sua produção é realizado um processo chamado de transesterificação, em que é feita uma reação de óleo vegetal em metanol ou etanol, na presença de um catalisador (MAGALHÃES, 2019).

Os óleos vegetais usados na reação podem ser de mamona, de dendê, de palma de soja, milho, amendoim, algodão, babaçu etc. Óleos de frituras também podem ser reutilizados, esse reaproveitamento é benéfico para o meio ambiente porque impede que esses óleos sejam lançados nas águas de rios, lagos, lençóis freáticos ou contaminem o solo. Já o álcool usado nessa reação geralmente tem sido o metanol ou o etanol. Dessa forma, além do biodiesel, obtém-se também a glicerina como produto. Esse é outro aspecto positivo, porque a glicerina é um produto de valor comercial, sendo usada na produção de cosméticos e produtos de limpeza (FOGAÇA).

### **3. METODOLOGIA**

Para o experimento foi utilizado a lipase fúngica isolada de *Candida rugosa* (tipo VII), imobilizada em diferentes suportes (gesso comercial, sílica gel e carvão ativado produzido a partir da casca de coco) como catalisador na reação de transesterificação entre óleo de soja e etanol, produzindo biodiesel.

O processo de imobilização da lipase de *Candida rugosa* (LCR) nos suportes selecionados por adsorção, consistiu do contato direto da solução enzimática com os suportes tratados.

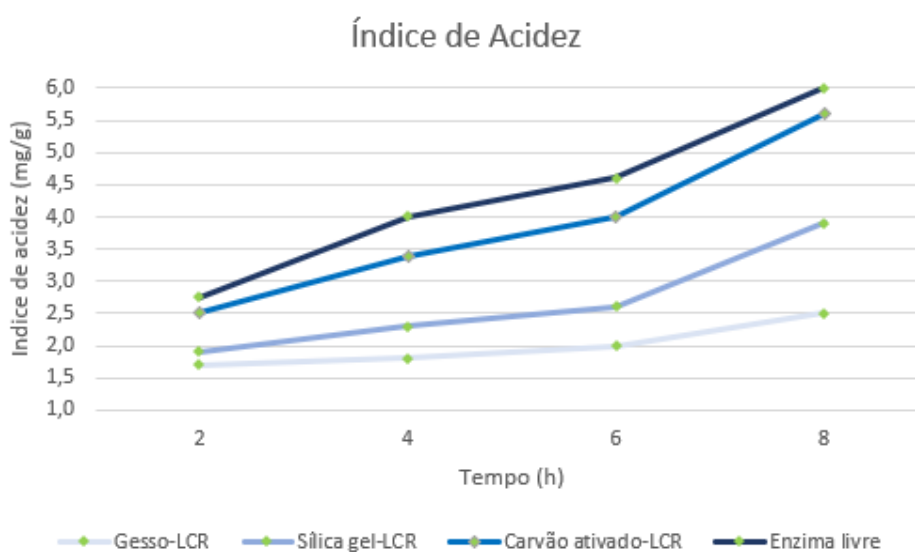
Para avaliar o efeito da imobilização sobre a atividade catalítica da lipase de *Candida rugosa*, foi comparada a atividade da enzima imobilizada com a atividade da enzima em solução. Os resultados foram expressos em índice de acidez, que representa a quantidade em mg de base necessárias para neutralizar 1 g de ácido, no caso ácido graxo livre.

A eficiência de imobilização (n%) foi estimada com uma razão entre a atividade da enzima imobilizada e a atividade da enzima livre, de acordo com a Equação 1.

$$(n\%) = \left( \frac{A_i}{A_s} \right) \cdot 100$$

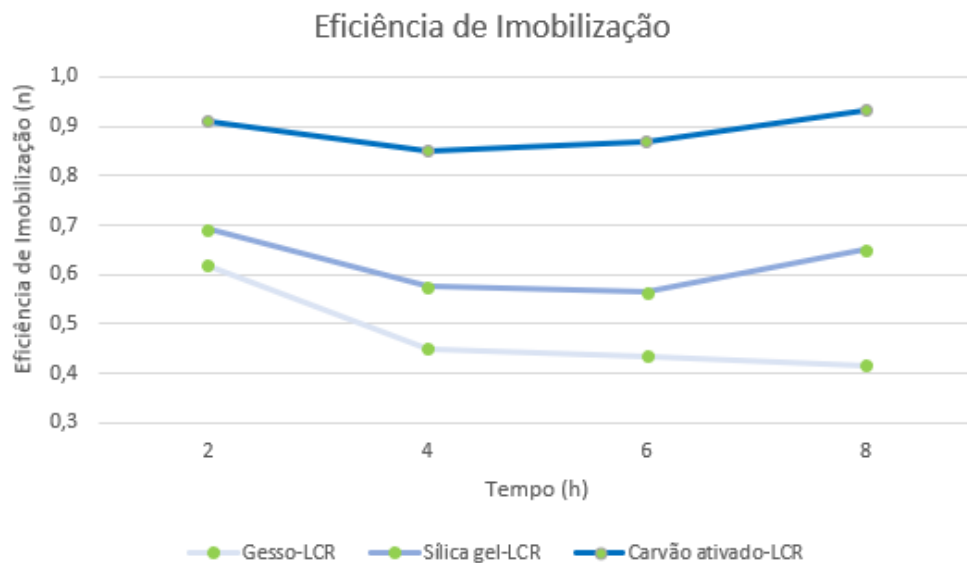
#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O resultado da hidrólise do óleo em ácidos graxos e glicerol foi expresso em índice de acidez, que indica a quantidade em mg de base necessárias para neutralizar 1 g de ácido graxo produzido. O gráfico é mostrado na figura abaixo.



Um elevado índice de acidez indica que o óleo está sofrendo quebras em sua cadeia, liberando seus constituintes principais, os ácidos graxos. A partir desse gráfico, podemos notar que o índice de acidez do carvão ativado foi o que mais se aproximou da atividade da lipase livre, que foi considerada controle para as análises.

Foi calculada a eficiência de imobilização (n) a partir da Equação 1 nos quatro intervalos.



A partir desses valores foi calculada a eficiência média durante esse período.

Suporte/Enzima	n(%)
Carvão ativado-LCR	89
Sílica gel-LCR	62
Gesso-LCR	48

A eficiência ao longo de 8h da imobilização com carvão ativado em comparação com a enzima livre foi de 89%, valor portanto bastante próximo da máxima eficiência de imobilização.

Alguns fatores podem explicar essa maior eficiência do carvão ativado, como: sua superfície irregular, maior área superficial, grande número de poros, presença de corpos globulares com aglomerações pontiagudas e cônicas. Essas características podem favorecer a interação com a lipase devido à maior superfície de contato do suporte e as maiores possibilidades de interações hidrofóbicas.

## 5. CONCLUSÃO

Este trabalho mostrou que os diferentes suportes de imobilização tiveram um desempenho satisfatório, apresentando atividade catalítica após a imobilização, com destaque para o carvão ativado que obteve a maior eficiência de imobilização, seguido pela Sílica gel e gesso. Esses suportes, em especial o carvão ativado, apresentam portanto potencial para serem usados como biocatalisadores na produção de biodiesel.

## REFERÊNCIAS

SILVA, Adriano. et al. **Análise do potencial biocatalítico de lipase de Candida rugosa imobilizada em diferentes suportes**. Acta Ambiental Catarinense, 2021

FOGAÇA, Jennifer Rocha Vargas. **"Reações de Transesterificação"**; Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/reacoes-transesterificacao.htm>. Acesso em 02 de novembro de 2021.

MAGALHÃES, Lana. **Biodiesel**; Toda Matéria. Disponível em: [www.todamateria.com.br/biodiesel/](http://www.todamateria.com.br/biodiesel/). Acesso em 02 de novembro de 2021.

LOPES, Fernanda. **Enzimas imobilizadas: o que são? Para que servem?**; Profissão BioTec. Disponível em: [profissaobiotec.com.br/enzimas-imobilizadas-o-que-sao-para-que-servem](http://profissaobiotec.com.br/enzimas-imobilizadas-o-que-sao-para-que-servem). Acesso em 02 de novembro de 2021.

SOUZA, L. T. de Souza. et al. **Imobilização Enzimática: Princípios fundamentais e tipos de suporte**; Biotecnologia Aplicada à Agro&Indústria.