

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NA SÍNTESE DO OLEATO DE HEXILA EMPREGANDO LIPASE G IMOBILIZADA EM PARTÍCULAS MAGNETIZADAS DE POLI(ESTIRENO-CO-DIMETACRILATO DE TRIETILENOGLICOL)

VINICIUS SAMPAIO SILVA¹, GABRIELLE POLICARPO DE ASSIS¹, MATEUS VINÍCIUS CASAGRANDE DA SILVA¹, LARISSA FREITAS¹

¹Universidade de São Paulo, Escola de Engenharia de Lorena, Departamento de Engenharia Química

E-mail para contato: vinisampaio09@usp.br

RESUMO – O atual trabalho teve como objetivo sintetizar o éster emoliente oleato de hexila a partir da lipase de Penicillium camemberti (lipase G) imobilizada em suporte polimérico magnetizado a base de estireno e dimetacrilato de trietilenoglicol (STY-TEGDMA-M). Inicialmente foi obtida a magnetita, realizada a modificação da sua superfície para posterior síntese do copolímero via polimerização em suspensão. A partir do suporte seco (umidade inferior a 10%) foi imobilizada a lipase G por adsorção física, sendo encontrada uma atividade de 491 U g⁻¹ a partir da síntese do oleato de etila. As sínteses do oleato de hexila foram realizadas na faixa de temperatura de 35-55 °C, sendo obtido o melhor rendimento de reação (81%) e produtividade (43,10 mmol.L⁻¹.h⁻¹) a 45°C. Constatou-se a eficiência da matriz polimérica utilizada para imobilizar lipases e aplicá-las na síntese de ésteres, visto que a imobilização conferiu à lipase uma maior estabilidade térmica além da capacidade de sintetizar ésteres emolientes em todas as condições testadas.

1 INTRODUÇÃO

A crescente procura por novos processos ambientalmente sustentáveis e ecológicos faz a biocatálise ser um foco de grande interesse de pesquisa. Além disso, a utilização de condições de processos com baixa toxicidade e menos emissão de efluentes químicos contaminantes, torna o processo bioquímico uma ótima alternativa para o futuro das indústrias, visto que, cada vez mais, leis e regimentos ambientais se tornam mais rigorosos (Aguieiras *et al.*, 2019; da Silva *et al.*, 2020a).

A biocatálise é um processo alternativo e menos severo em relação à catálise química, consistindo em um processo catalítico mediado por enzimas (da Silva *et al.*, 2020b). A síntese enzimática possui vantagens em relação à catálise química convencional, visto que emprega condições amenas de temperatura e pressão, reduzindo assim, a energia necessária e os custos, além de evitar a formação de produtos não desejados originados pela degradação térmica e/ou por reações paralelas não específicas (Sousa *et al.*, 2021).

Sabe-se que enzimas, em geral, quando expostas a temperaturas elevadas, podem sofrer redução na sua atividade em função de alterações conformacionais da proteína, além de afetar a interação entre a enzima e o substrato, favorecendo o rompimento do complexo intermediário enzima-substrato (ES). É válido ressaltar que, quando a enzima está na sua forma livre, essa redução na atividade pode ser ainda mais acentuada. Por este fato, a imobilização é essencial para a obtenção de um melhor desempenho do biocatalisador, visto que, proporciona vantagens como aumento da estabilidade térmica e operacional (Bon *et al.*, 2008; Furlani et al., 2020).

A síntese de ésteres emolientes via rota enzimática é catalisada por lipases, enzimas que atuam na quebra de moléculas de lipídeos, como óleos e gorduras, produzindo ácidos graxos e glicerol. A aplicação desses ésteres abrange principalmente as indústrias cosméticas e farmacêuticas para a produção de batons, lubrificantes, hidratantes, solubilizantes para cremes e condicionadores (Santos, 2015).

Nesse contexto, o presente trabalho visou a síntese do éster emoliente oleato de hexila via esterificação catalisada pela lipase de *Penicillium camemberti* (Lipase G) imobilizada em poli(estireno-co-dimetacrilato de trietilenoglicol) magnetizado (STY-TEGDMA-M), avaliando seu rendimento e produtividade do bioprocessamento mediante a variação da temperatura reacional.

2 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

A matriz copolimérica a base de estireno e reticulante dimetacrilato de trietilenoglicol foi sintetizada a partir da técnica de polimerização em suspensão com adição de Fe^{2+} e Fe^{3+} (STY-TEGDMA-M), utilizando PVA como agente de suspensão e AIBN como iniciador, em um reator de polimerização, conforme metodologia descrita por Bento *et al.*, 2017. A imobilização da lipase G foi realizada pela técnica de adsorção física no copolímero sintetizado, formando o complexo G-STY-TEGDMA-M.

A atividade catalítica do biocatalisador foi quantificada pelo método da esterificação do ácido oleico e etanol baseado em metodologia descrita por Pinto *et al.* (2014), e quantificado de acordo com a equação 1. As reações de esterificação foram feitas em frascos agitados, operados em batelada, empregando a razão molar (ácido/álcool) de 1:1, concentração de biocatalisador de 10% (m/v), sob agitação de 150 rpm, por um período de 48 horas. A temperatura das reações foi variada na faixa de 35 - 55 °C, sendo quantificado o ácido graxo residual, de acordo com a equação 2. Para os cálculos de atividade e análise da conversão reacional, foram utilizadas soluções de KOH padronizado (0,04 mol L⁻¹) utilizando fenolftaleína como indicador.

$$\text{ÁcidoCarboxílico}(g.L^{-1}) = \frac{V \cdot M \cdot MM}{v} \quad (1)$$

$$\text{Produtividade}(mmol \text{ éster formado}.L^{-1}.h^{-1}) = \frac{(NFA)^0 \cdot X_{ac} \cdot t}{t} \quad (2)$$

Em que: V é o volume de KOH em mL, M a concentração de KOH em mol.L⁻¹, MM é a massa molar do ácido carboxílico em g.mol⁻¹, v é o volume da alíquota em mL, (NFA)⁰ é a

quantidade inicial de ácido graxo (mmol), $(X_{ac})_t$ é a conversão de ácido graxo em um determinado tempo e t em tempo (h).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

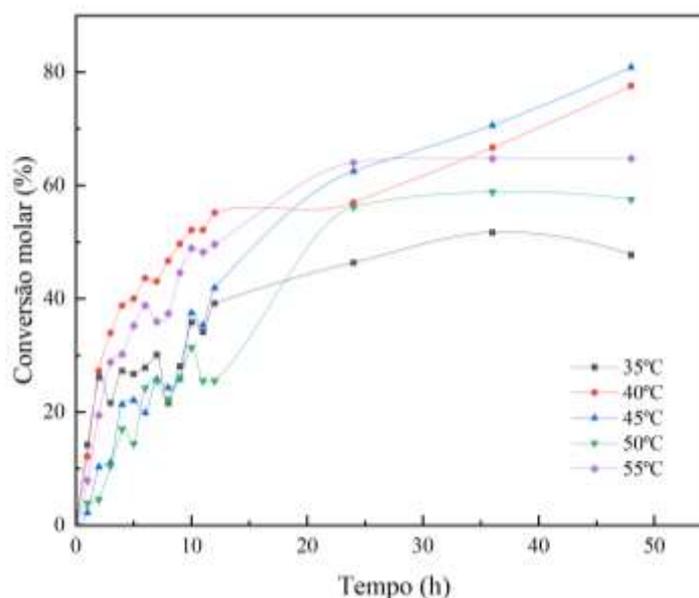
3.1 Atividade enzimática do biocatalisador

A atividade catalítica da lipase G imobilizada em STY-TEGDMA-M para a síntese do oleato de etila foi de $491,30 \pm 41,43 \text{ U g}^{-1}$, considerada adequada, visto que ela é relatada na literatura como uma lipase com elevada eficiência para catalisar reações de sínteses. Em trabalho realizado por SILVA *et al.* (2020), que empregou um suporte similar ao utilizado no presente estudo para imobilizar a lipase G, foi encontrado uma atividade catalítica de 119 U g^{-1} para a mesma síntese, valor esse, inferior ao obtido no atual trabalho. Constatou-se, portanto, a eficiência da matriz polimérica utilizada para imobilizar lipases e aplicá-las na síntese de ésteres.

3.2 Influência da temperatura na síntese do éster emoliente

A Figura 1 demonstra os perfis de conversão do ácido oleico na síntese do oleato de hexila catalisada pela lipase G imobilizada em STY-TEGDMA-M sob diferentes temperaturas durante 48 horas de reação.

Figura 1: Perfil da conversão do ácido oleico na reação de esterificação para a síntese do oleato de hexila empregando a lipase G imobilizada em STY-TEGDMA-M na faixa de temperatura 35-55 °C



Fonte: Próprio autor

Nas sínteses, foi observado que as máximas conversões alcançadas foram nas temperaturas de 40 e 45°C, sendo de 75 e 81%, respectivamente. Vilas Bôas *et al.* (2021)

citam em seu trabalho publicado sobre a síntese do éster oleato de isoamila, que ao expor a lipase G a uma temperatura de 45°C, foi atingida conversão máxima de 82% em 72 horas. Isso demonstra um melhor desempenho do biocatalisador desenvolvido no presente trabalho, visto que, a conversão encontrada foi equivalente ao dos autores citados, porém, em menor tempo reacional.

Ao analisar a temperatura de 35°C, é notável a ineficiência obtida pelo biocatalisador, atingindo apenas 45% de conversão máxima. Este fato pode estar relacionado à elevada viscosidade do meio reacional sob essa temperatura, o que pode ter prejudicado a transferência de massa, além do baixo fornecimento de energia cinética para o bioprocessamento, desfavorecendo a formação do produto final.

Por outro lado, ao analisarmos o comportamento do biocatalisador a temperaturas mais elevadas, nota-se um bom desempenho do mesmo, atingindo máximas acima de 60% em 50 e 55 °C. Esta constatação corrobora com a idéia da eficiência da matriz polimérica e do método de imobilização utilizados no presente trabalho para a obtenção do biocatalisador, trazendo à lipase uma maior estabilidade térmica.

A Tabela 2, apresenta as produtividades máximas alcançadas ao final das 48 horas de reação para a síntese do oleato de hexila sob as diferentes temperaturas.

Tabela 2: Produtividade em éster obtida empregando-se a lipase G em STY-TEGDMA-M depois de percorridas 48 horas de reação

Temperatura (°C)	Produtividade em 48h (mmol.L ⁻¹ .h ⁻¹)
35	30,26
40	41,67
45	43,10
50	33,84
55	32,84

Fonte: Próprio Autor

A produtividade máxima, analisada durante a primeira hora em cada temperatura, foi obtida na faixa de 160-200 mmol.L⁻¹.h⁻¹ indicando um valor inicial elevado, e ao longo do tempo essa produtividade foi diminuindo, como já esperado, atingindo-se máximas entre 30 e 40 mmol.L⁻¹.h⁻¹ ao final das 48h. Esses resultados comprovam o bom desempenho do biocatalisador G-STY-TEGDMA-M desenvolvido para a obtenção do éster emoliente desejado.

4 CONCLUSÃO

A partir das observações experimentais, a lipase G imobilizada no suporte polimérico magnetizado, apresentou um bom desempenho, visto que, em todas as sínteses foi produzido o éster emoliente. Assim, o biocatalisador mostrou-se como uma alternativa viável para conduzir reações de sínteses, visto que se mostrou estável sob temperaturas mais elevadas e produtividades em éster considerável, mesmo após 48 horas de reação. A continuidade do trabalho será dada alterando-se o modo de condução desse bioprocessamento, empregando

processos contínuos realizados em biorreatores tubulares e de tanque agitado, buscando a obtenção de produtividades mais elevadas em ésteres emolientes.

5 AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – Código de financiamento 001, e a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) - Processo nº 2016/10636-8 e a Universidade de São Paulo (Bolsas PUB USP), pelo suporte financeiro.

6 NOMENCLATURA

G-STY-TEGDMA-M – Lipase G imobilizada em suporte a base de estireno, dimetacrilato de trietilenoglicol e magnetita;

STY-TEGDMA-M – copolímero a base de estireno, dimetacrilato de trietilenoglicol e magnetita.

7 REFERÊNCIAS

- AGUIEIRAS ECG, CAVALCANTI-OLIVEIRA ED, FREIRE DMG, Current status and new developments of biodiesel production using fungal lipases. *Fuel*, v. 159, p. 52-67, 2015.
- BON EPS, FERRARAMA C, *Enzimas em biotecnologia: produção, aplicações e mercado*. Rio de Janeiro: Editora Interciência, 1ª edição, 2008.
- DA SILVA MVC, SOUZA AB, DE CASTRO HF, AGUIAR LG, DE OLIVEIRA PC, FREITAS L, Synthesis of 2-ethylhexyl oleate catalyzed by *Candida antarctica* lipase immobilized on a magnetic polymer support in continuous flow. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, v. 43, p. 615-623, 2020.
- FURLANI IL, AMARAL BS, OLIVEIRA RV, CASS QB, Imobilização enzimática: conceito e efeitos na proteólise. *Quím. Nova*, v. 43, n. 4, p. 463-473, 2020.
- KHAN NR, RATHOD VK, Enzyme catalyzed synthesis of cosmetic esters and its intensification: A review. *Process Biochem.*, v. 50, p. 1793-1806, 2015.
- LIU TT, LIU XT, CHEN QX, SHI Y, Lipase inhibitors for obesity: a review. *Biomed. Pharmacother.*, v. 128, p. 110314, 2020.
- MUSTAFA A, NIKURA F, Green synthesis of isopropyl palmitate using immobilized *Candida antarctica* lipase: Process optimization using response surface methodology. *Cleaner Eng. Technol.* (2022), doi: <https://doi.org/10.1016/j.clet.2022.100516>
- SANTOS JS, Esterificação de ácido oleico e álcoois (C2-C8): Estudos de partição de compostos e influência de catalisadores. 2015.
- SOUSA RR, PINTO MCC, AGUIEIRAS ECG, CIPOLATTI EL, MANOEL EA, DA SILVA AS, PINTO JC, FREIRE DMG, FERREIRA-LEITÃO VS, Comparative performance and reusability studies of lipases on syntheses of octyl esters with an economic approach. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, v. 45, p. 131-145, 2021.