

VIABILIDADE DO USO DE POLIDIMETILSILOXANO PARA IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE E PRODUÇÃO DE ÉSTERES

Henrique de Oliveira Santos, Amanda Maciel Ticianel, Leonardo Brunelli do Nascimento, Marcos de Souza (Orientador), e-mail: msouza2@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Tecnologia/Maringá, PR.

Engenharia Química/Processos Bioquímicos (30601010)

Palavras-chave:

Polímero, Microfluídica, Intumescimento, Adsorção, Imobilização.

Resumo

A microfluídica, área muito atrativa e com grandes utilidades no campo de desenvolvimento, vem sendo estudada e aprimorada à fim de aumentar a eficácia dos procedimentos químicos, sendo o PDMS um material promissor para a construção destes dispositivos. O objetivo deste trabalho é a avaliação do nível de intumescimento do PDMS para diferentes solventes, e em seguida avaliar a eficácia da utilização do método de imobilização de enzimas para reações de esterificação. Foi encontrado que o PDMS possui uma boa resistência à diversos solventes, mas apresenta uma eficiência de imobilização menor que sílicas e outros materiais mais comuns.

Introdução

Com a evolução da tecnologia houveram avanços na microfluídica, uma ciência de sistemas que manipulam e estudam pequenas quantidades de fluidos (WHITESIDES, 2006). Os microrreatores estão ganhando espaço em diversos ambientes, pois possuem diversas vantagens, como maior seletividade e segurança na realização de reações químicas, operação em regime contínuo, maior controle do tempo de residência, rápido transporte de massa e energia e eficiência energética (ELVIRA et al., 2013; WOHLGEMUTH et al., 2015). Microrreatores podem ser construídos com diversos materiais, mas o polímero deste trabalho é o polidimetilsiloxano (PDMS). Para a ocorrência da reação de esterificação, é preciso a presença de um catalisador, sendo as lipases as enzimas ideais para este caso. Devido às diversas vantagens apresentadas, este trabalho tem por objetivo a imobilização enzimática em reatores de microcanais para produção de aromas. Para tal também está sendo analisado a possibilidade de utilizar a lipase, uma enzima com alto interesse industrial, devido à sua estabilidade, seletividade e maior escala de produção (CARDENAS et al., 2001).

Materiais e métodos

Materiais

Foi utilizado o silicone Sylgard 184 (PDMS). Os solventes utilizados nos testes de resistência foram (todos de grau P. A.): álcool isopropílico, acetato de etila, butanol, ácido octanoico, metanol, pentan-2-ol, álcool isoamílico, etanol, glicerol, ácido oleico, triacetina, ácido fórmico, etileno glicol, trietanolamina, ácido cítrico anidro, ácido aspártico, ácido succínico, acetona e água deionizada. Os materiais utilizados na imobilização foram: água oxigenada (35%, 130 volumes, Nuclear), ácido clorídrico (37% P. A., Synth), 3-glicidoxipropiltri-metoxissilano (GPTMS, 98%, Sigma), ácido sulfúrico (p. A., Synth), metaperiodato de sódio (P. A., Neon) e lipase de *Burkholderia cepacia* (Amano Lipase OS, Aldrich).

Métodos

Preparo das Amostras de PDMS: foi realizada uma mistura na proporção de dez partes de monômero para uma parte de catalisador (m/m). A mistura foi transferida para uma placa de Petri e colocada na estufa a 60 °C por 2 horas para a cura do polímero. Posteriormente o PDMS foi cortado em peças idênticas, com dimensões de 1 cm x 1 cm x 0,5 cm.

Contato Entre Amostras de PDMS e Solventes: as peças de PDMS foram submergidas em béqueres preenchidos com os líquidos em estudo. A massa de cada amostra foi aferida nos instantes de zero, 1, 2, 6, 12, 24, 48 e 72 horas. Para a pesagem, cada amostra foi retirada do béquer, secada rapidamente com papel absorvente e então pesada na balança analítica, para ser retornada posteriormente ao respectivo béquer.

Imobilização da lipase: pedaços de PDMS foram submergidos em uma solução de H₂O/H₂O₂/HCl (5:1:1 %v/v) por 30 minutos; e depois foram silanizados com solução de GPTMS 1% (v/v) durante 6 h sob agitação suave a 60 °C. Para a hidrólise dos grupos epóxi foi adicionado ácido sulfúrico 0,1 mol L⁻¹ com agitação a 60 °C por 2 h; e então lavados com água e secos em estufa, à 45 °C. A oxidação dos grupos terminais foi realizada com solução de NaIO₄ 0,03 mol L⁻¹ em temperatura ambiente, durante 2h. A imobilização foi realizada colocando-se em contato suporte e solução enzimática (1 mL de enzima e 4 mL de tampão fosfato), incubados a 20 °C, retirando-se alíquotas para análise da quantidade imobilizada de enzima. Como comparação a imobilização também foi realizada por adsorção simples. Para avaliar o grau de lixiviamento da lipase, as peças de PDMS foram colocadas em banho com agitação a temperatura ambiente por 48 horas, calculando-se a quantidade restante de lipase no suporte.

Resultados e Discussão

Na Figura 1 estão apresentados os dados de intumescimento para os álcoois e as tendências esperadas foram vistas. Primeiro, quanto maior a cadeia carbônica dos álcoois com apenas uma hidroxila, maior é o aumento de massa da amostra de PDMS, já que a polaridade diminui com o aumento da cadeia.

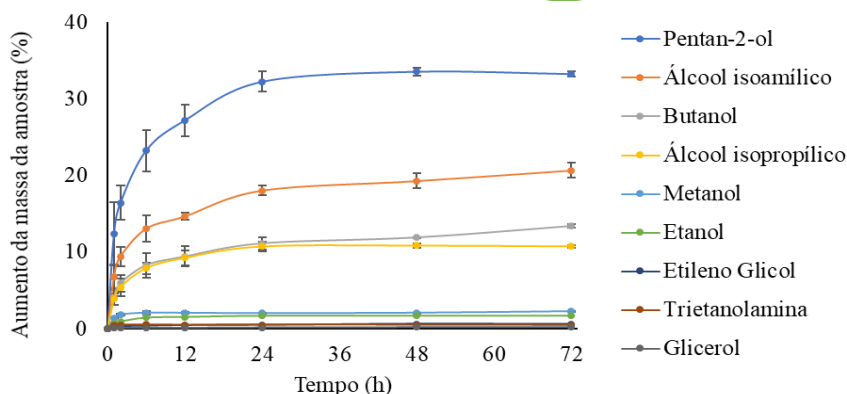


Figura 1 – Aumento de massa do PDMS para os álcoois.

Da mesma maneira que para o caso dos álcoois, foram testados alguns ácidos carboxílicos, como apresentado na Figura 2. Para os ácidos fórmico, oleico e octanoico não houve uma sequência em relação ao tamanho da cadeia. O ácido fórmico promoveu um aumento de massa de apenas 1%, enquanto que para o ácido octanoico este valor foi de 24%.

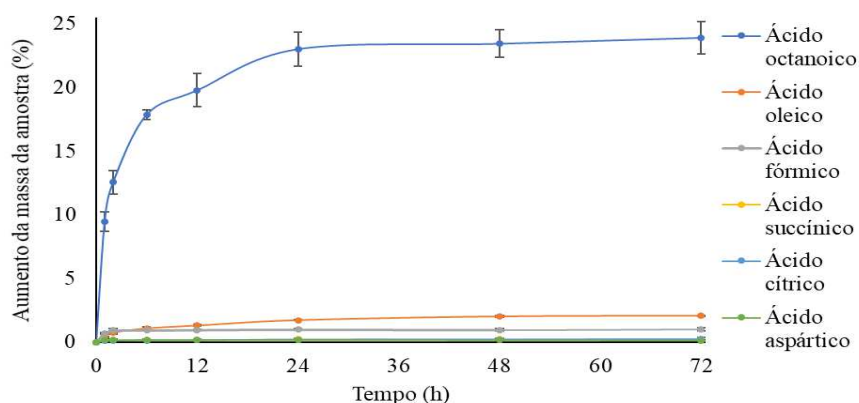


Figura 2 – Aumento de massa do PDMS para ácidos carboxílicos.

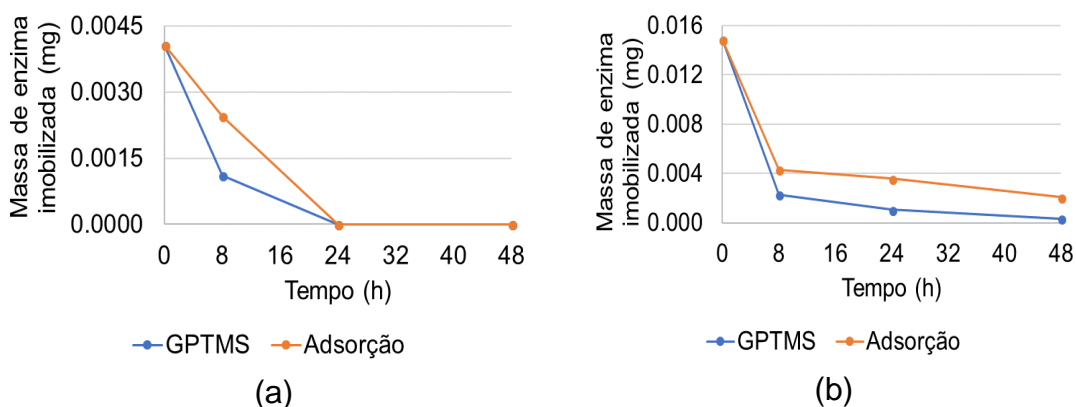


Figura 3 – Comparação da quantidade de lipase imobilizada com os métodos de GPTMS e adsorção simples em PDMS, com concentração inicial de enzima de (a) 3 g L^{-1} e (b) 10 g L^{-1} .

A partir da Figura 3, pode-se inferir que a imobilização da enzima pelo método do GPTMS é menos vantajosa numa concentração alta (10 g L^{-1}), visto que a quantidade de enzima presa às paredes do polímero tende a manter-se o dobro, sendo já esperado este resultado para esta situação. No primeiro caso, esperava-se que a concentração de enzimas imobilizadas fosse maior pelo método GPTMS, porém devido a utilização de alguns passos do processo, constatou-se o arraste do material. Isso se dá ao fato da superfície do PDMS ser muito lisa, apresentando uma área superficial de contato muito pequena, impedindo, quase que completamente, a ligação da enzima à parede, independentemente do método utilizado.

Conclusões

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade do uso de polidimetilsiloxano como suporte enzimático para reações de esterificação. Foi encontrado que a maioria das substâncias testadas apresentou um valor de intumescimento abaixo do limite prático de 20% de aumento da massa. Além disso, quando comparados o método do GPTMS e adsorção simples, constatou-se um arraste do material analisado devido a ínfima área superficial que o polímero propicia à imobilização das enzimas na parede, transformando-se assim, num material de difícil utilização.

Agradecimentos

Agradeço ao CNPq pelo auxílio financeiro concedido e aos professores e pesquisadores que, de alguma forma, auxiliaram neste projeto.

Referências

- CARDENAS, F.; CASTRO, M. S.; SANCHEZ-MONTEIRO, J. M.; SINISTERRA, J. V; VALMASEDA, M.; ELSON, S. W.; ALVAREZ, E. Novel microbial lipases: catalytic activity in reactions in organic media. **Enzymes and Microbial Technology**, v. 18, p. 145–154, 2001.
- ELVIRA, K. S. et al. The past, present and potential for microfluidic reactor technology in chemical synthesis. **Nature chemistry**, v. 5, n. 11, p. 905–915, 2013.
- WHITESIDES, G. M. The origins and the future of microfluidics. **Nature**, v. 442, n. 7101, p. 368–373, 2006.
- WOHLGEMUTH, R. et al. Microscale technology and biocatalytic processes: opportunities and challenges for synthesis. **Trends in Biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 302–314, 2015.
- WOODCOCK, L. L.; WILES, C.; GREENWAY, G. M.; WATTS, P.; WELLS, A.; EYLEY, S. Enzymatic synthesis of a series of alkyl esters using novozyme 435 in a packed-bed, miniaturized, continuous flow reactor. **Biocatalysis and Biotransformation**, v. 26, n. 6, p. 466–472, 2008.