

John Lennon dos Reis Friedrich, Rafael Costa Rodrigues

Laboratório de Biotecnologia e Tecnologia Enzimática, Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Caixa Postal 15090 - CEP 91501-970 - Porto Alegre - RS - E-mail: rafaelcrodrigues@ufrgs.br

## Introdução

Ésteres de cadeia curta são compostos de aroma bastante utilizados na indústria alimentar. Quando produzidos por via biotecnológica podem ser considerados aromas naturais. O uso de lipases como catalisadores da reação é uma das formas de obtenção destes produtos naturais. Quando immobilizadas em diferentes suportes, estas enzimas podem apresentar atividades diferentes na reação.

As lipases são enzimas utilizadas na hidrólise de óleos e gorduras. Contudo, em condições adequadas, também atuam em reações de esterificação ( $\text{Ácido} + \text{Álcool} \rightarrow \text{Éster} + \text{Água}$ ).

Diversos parâmetros afetam a atividade das lipases, assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar diferentes derivados da lipase B de *Candida antarctica* (CALB) na reação de síntese de aroma de maçã. Os parâmetros analisados foram: temperatura, razão molar do substrato, quantidade de enzima, e teor de água adicionada.

## Materiais e Métodos

Três derivados immobilizados em suportes hidrofóbicos (Supelco-CALB; Daiaon-CALB e C18-CALB) foram comparados com a preparação comercial Novozym 435.

Reação:

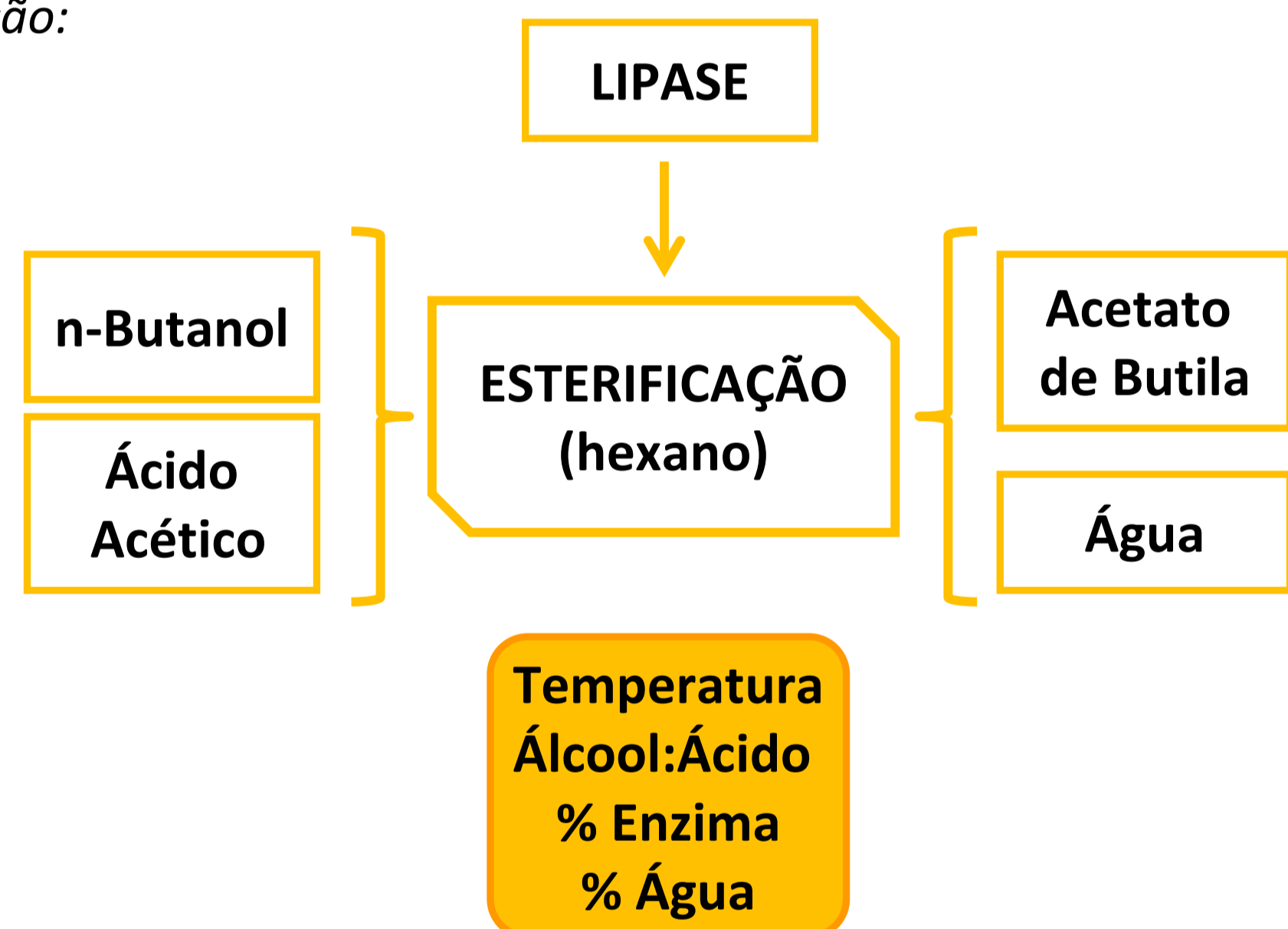


Figura 1. Esquema da reação de síntese do acetato de butila.

Tabela 1: Variáveis avaliadas e suas faixas de variação.

Variáveis	Faixas	
Temperatura (°C)	25	50
Razão Molar de Substrato <sup>a</sup>	1:1	7:1
Enzima <sup>b</sup>	0	20
Água Adicionada <sup>b</sup>	0	2

<sup>a</sup> álcool:ácido; <sup>b</sup> % por massa de substrato.

Rendimento:

O progresso da reação de esterificação foi monitorado pela determinação do teor de ácido residual por titulação de 1 mL de amostra contra o hidróxido de sódio (0,01 N), e calculado conforme eq. 1:

$$\text{Rendimento} = \left[ \frac{[\text{ácido}]_i - [\text{ácido}]_f}{[\text{ácido}]_i} \right] * 100\% \quad (1)$$

## Resultados e Discussões

Os quatro derivados immobilizados foram comparados quanto a sua atividade na reação de esterificação e o resultado está apresentado na figura 2.

Os derivados Novozym 435 e Supelco-CALB foram os que apresentaram os melhores resultados e foram comparados, avaliando os parâmetros da reação. Os resultados estão demonstrados a seguir para razão molar de substrato (Figura 3), conteúdo de enzima (Figura 4), água adicionada (Figura 5) e temperatura (Figura 6).

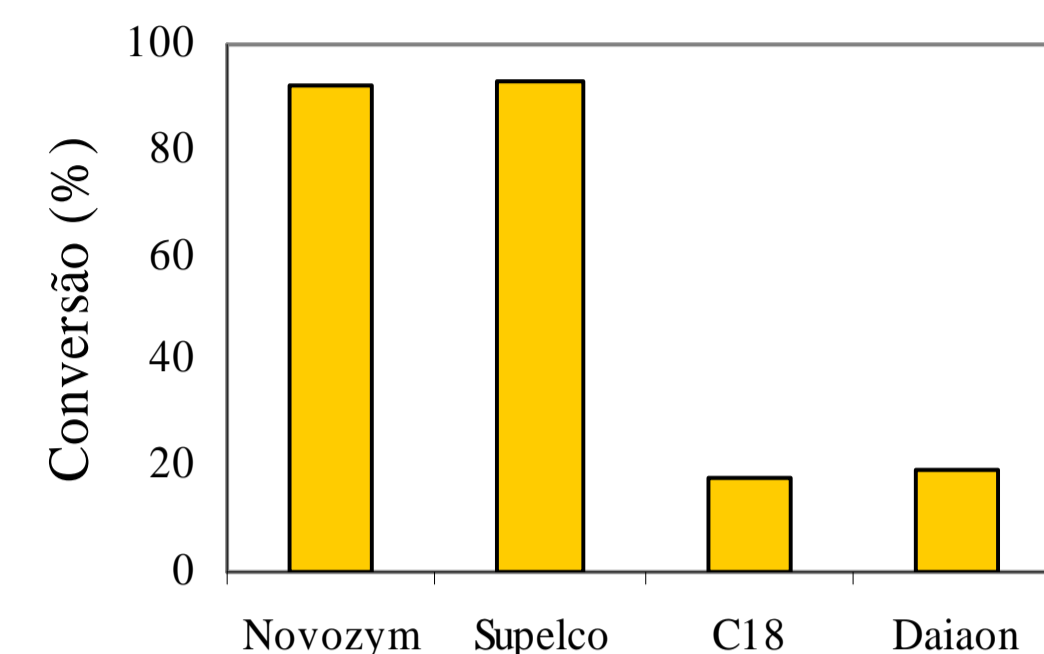


Figura 2. Comparação dos diferentes derivados immobilizados de CALB na síntese de acetato de butila.

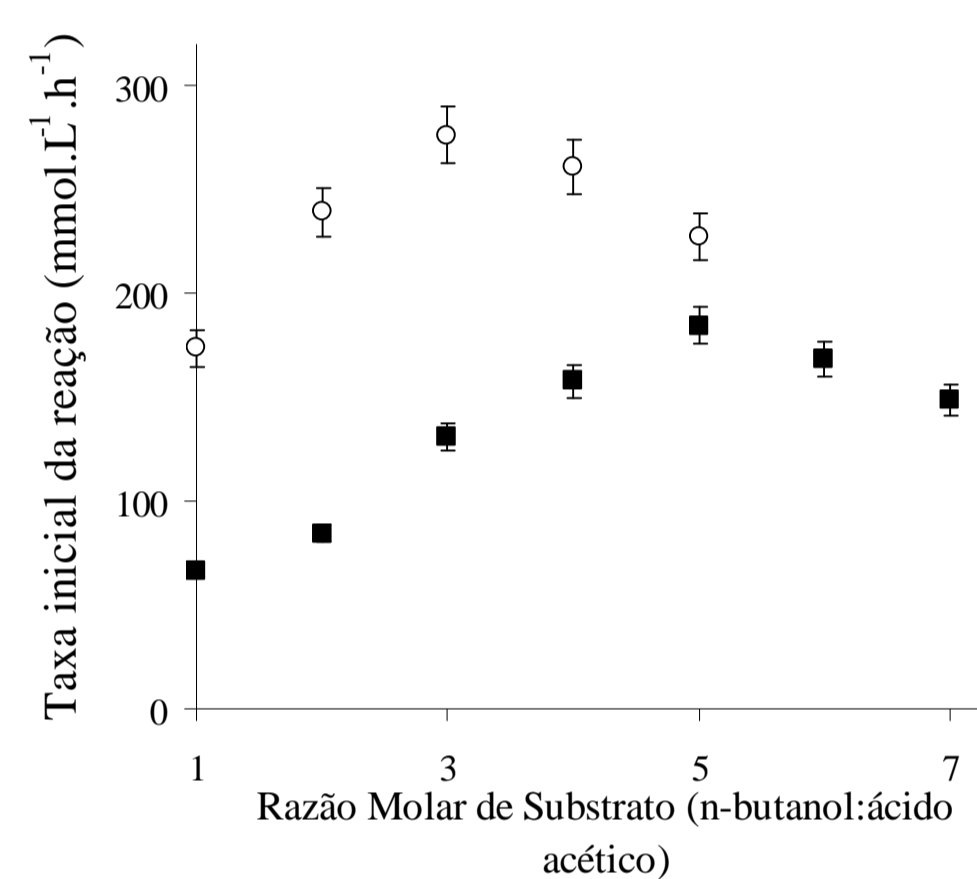


Figura 3. Efeito da Razão Molar de Substrato. (■) Supelco-CALB, (○) Novozym 435

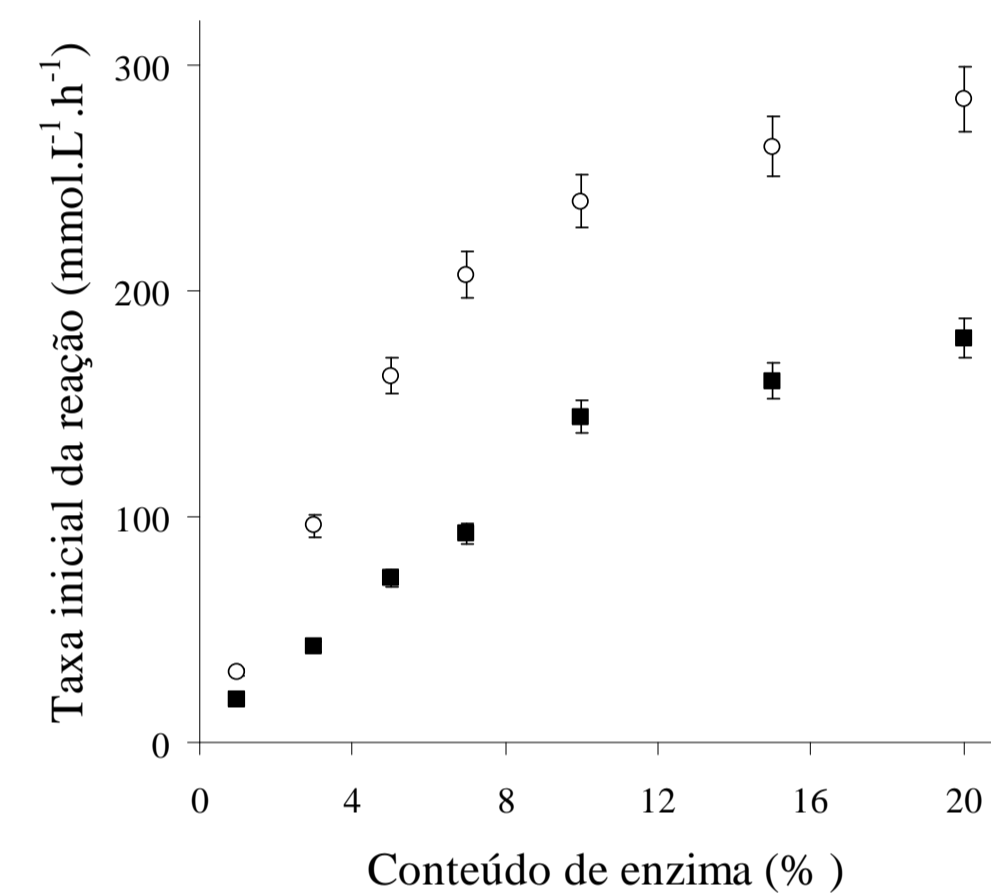


Figura 4. Efeito da Quantidade de Enzima. (■) Supelco-CALB, (○) Novozym 435

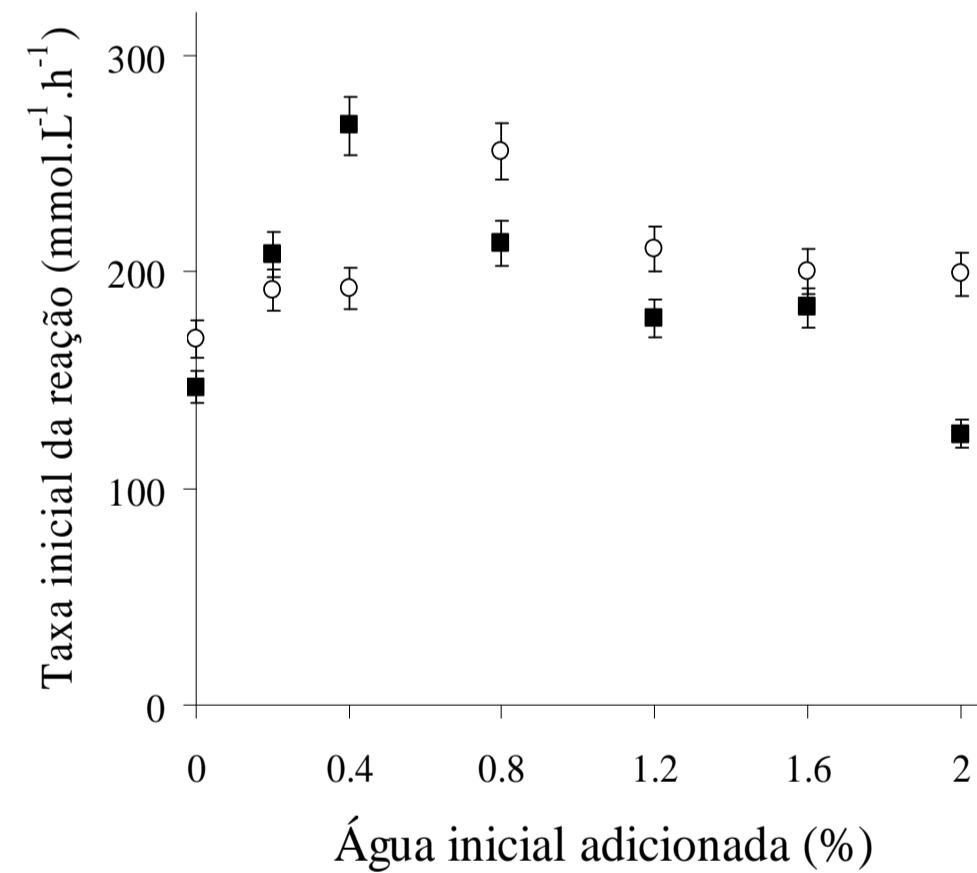


Figura 5. Efeito da Adição de Água à Reação. (■) Supelco-CALB, (○) Novozym 435

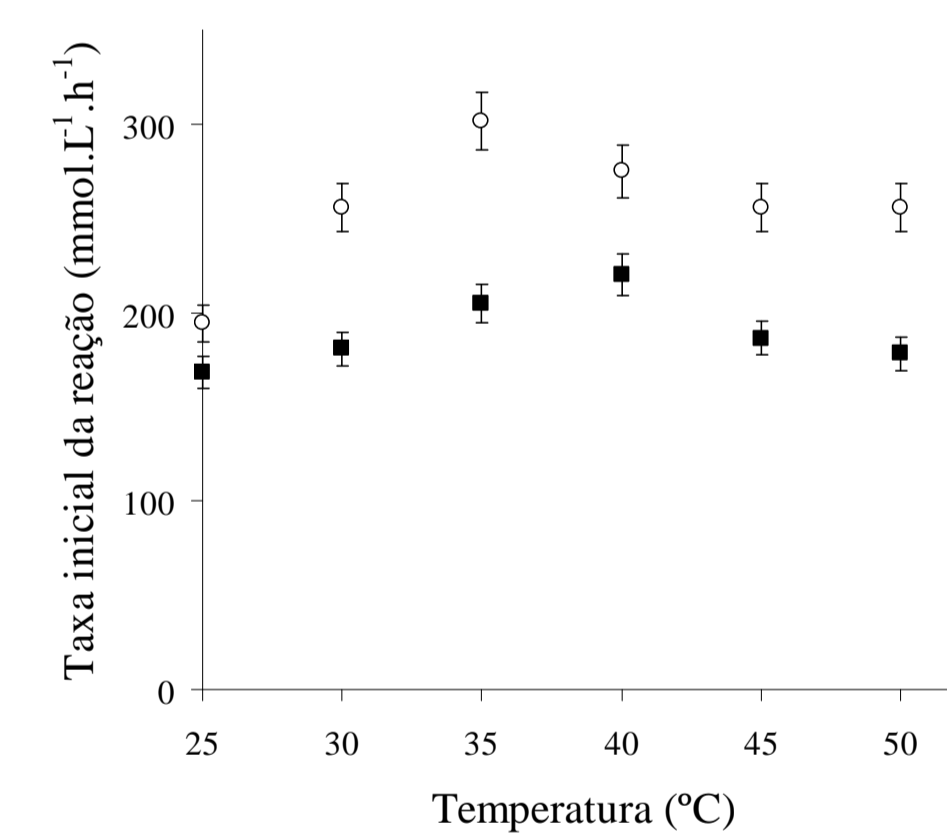


Figura 6. Efeito da Temperatura de Reação. (■) Supelco-CALB, (○) Novozym 435

Os derivados, Novozym 435 e Supelco-CALB foram avaliados quanto ao uso repetido na reação de esterificação. A condição de reação utilizada foi a ótima, para cada derivado, definida anteriormente. Os resultados estão mostrados na Figura 7.

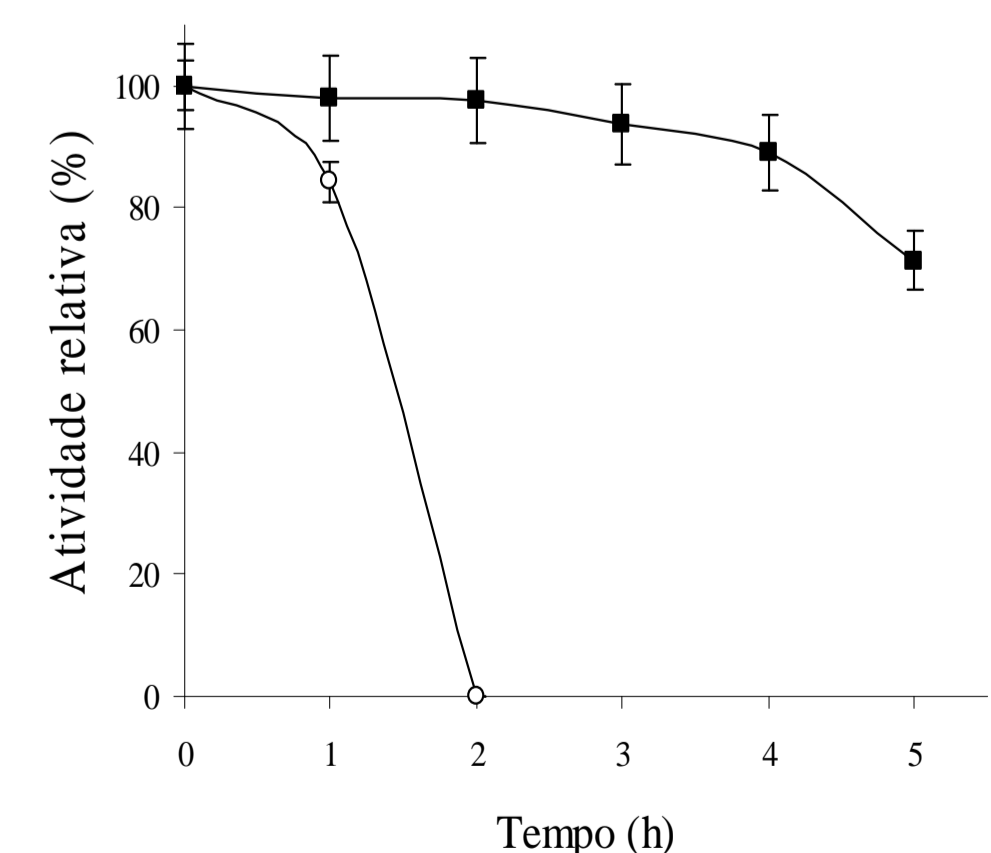


Figura 7. Comparação do Reuso dos Derivados. (■) Supelco-CALB, (○) Novozym 435

## Conclusões

As condições ótimas para a reação de síntese do acetato de butila foram diferentes para os dois derivados, e apenas para a quantidade de enzima apresentaram comportamento semelhante. Embora a enzima comercial Novozym 435 tenha apresentado maiores velocidades iniciais de reação, perdeu sua atividade consideravelmente, após dois ciclos de reuso; por outro lado, o derivado Supelco-CALB manteve a sua atividade praticamente inalterada após cinco ciclos de reação.