



Evento	Salão UFRGS 2019: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Material magnético a base de titânia aplicado como biocatalisador na síntese de éster flavorizante
Autor	MARIANA ALMEIDA GOMES
Orientador	ELIANA WEBER DE MENEZES

RESUMO

TÍTULO DO PROJETO: Material magnético a base de titânia aplicado como biocatalisador na síntese de éster flavorizante

Aluno: Mariana Almeida Gomes

Orientador: Eliana Weber de Menezes

O aluno realizou a obtenção de titânia (TiO_2 na forma de nanotubos) magnética a partir das sínteses de nanotubos de TiO_2 e de partículas magnéticas. Após sintetizar esses materiais foi realizada a mistura de ambos na proporção 1:1 e foi feito o recobrimento dessa mistura com alcóxido de titânio IV.

Para a síntese dos nanotubos de titânia, óxido de titânio comercial foi digerido em NaOH 10 mol.L^{-1} , sob agitação, durante 40 minutos. A suspensão obtida foi distribuída em autoclaves de inox revestidas de PTFE e colocadas em estufa por 48 horas a 140°C . Após esse tempo, as autoclaves foram resfriadas (até a temperatura ambiente). O produto obtido é constituído de TiO_2 na forma de nanofolhas; a fim de obtê-los na forma de tubos, realizou-se o abaixamento do pH até 1, utilizando-se HNO_3 3 mol.L^{-1} . Após esse processo, o material foi exaustivamente lavado com água destilada.

Na síntese das partículas magnéticas adicionou-se $4,32 \text{ g}$ de Fe^{3+} ao etilenoglicol sob agitação mecânica; após a completa solubilização, foi acrescentado acetato de sódio trihidratado e deixado em agitação mecânica por 1 hora. Após esse período, a mistura foi distribuída em duas autoclaves de inox e colocada em estufa a 180°C durante 15 horas. Aguardou-se o resfriamento do material até a temperatura ambiente e, então, procedeu-se a lavagem com água destilada e etanol, e secagem em linha de vácuo à temperatura ambiente.

Depois de preparados separadamente os nanotubos de titânia e as magnetitas, misturou-se esses dois materiais e recobriu-se com isopropóxido de titânio empregando-se o método de umidade incipiente. Após 15 dias, o material foi lavado com água e etanol e foi colocado em linha de vácuo para secagem a temperatura ambiente. Este material foi empregado como suporte para a imobilização de enzimas do tipo lipase.

Para a imobilização de enzimas, em um *ependorf*, adicionou-se 1 mL de solução enzimática (contendo $1750 \mu\text{L}$ de tampão fosfato de sódio $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 8 e $250 \mu\text{L}$ de enzima lipase TLL) à 50 mg do suporte e deixou-se o *ependorf* em agitação mecânica por 24 horas para garantir a imobilização das enzimas no suporte. Após as 24 horas, retirou-se o sobrenadante para ser analisado por UV-Vis. Esse procedimento foi realizado também com as enzimas lipase RML e CALB.

O suporte com a enzima imobilizada foi lavado com tampão fosfato de sódio $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ pH 7 e a cada lavagem determinou-se a atividade enzimática, por UV-VIS, considerando-se a reação de hidrólise do p-nitrofenilpalmitato (pNPP) com formação de ácido palmítico e p-nitrofenol (que absorve em 410 nm). O mesmo foi feito com o sobrenadante.

Para determinar a atividade enzimática no líquido (lavagens e sobrenadante) adicionou-se à $100 \mu\text{L}$ de amostra $900 \mu\text{L}$ de uma solução 3 mg.mL^{-1} de pNPP em isopropanol e deixou-se em banho-maria (37°C) por 2 minutos, após esse tempo analisou-se por UV-VIS.

Para determinar a atividade enzimática no sólido adicionou-se ao sólido (5 mg) $100 \mu\text{L}$ de tampão fosfato de sódio pH 7 e deixou-se em banho-maria (37°C) por 30 segundos. Acrescentou-se $900 \mu\text{L}$ de solução 3 mg.mL^{-1} de pNPP em isopropanol e o *ependorf* foi novamente colocado em banho-maria por 2 minutos. Após, a amostra foi analisada por UV-VIS.

Foi realizada também a quantificação de proteína. Para essa análise adicionou-se à uma microplaca $180 \mu\text{L}$ de reagente de Bradford e $20 \mu\text{L}$ da diluição da solução enzimática preparada inicialmente para a imobilização de enzimas (diluímos 30x e 50x), após essa adição, verificou-se

a absorvância por UV-Vis. Após a leitura das absorvâncias realizamos o cálculo da quantificação com base em uma curva de calibração.

Para a síntese do éster flavorizante, butanoato de butila, misturou-se 0,322 mL de ácido butírico, 0,322 mL de butanol e 34,3 mL de hexano. Então, separou-se 7 erlenmeyers e a todos eles adicionou-se 0,5 mL da mistura preparada (ácido butírico, butanol e hexano). Após isso, a dois deles adicionou-se 50 mg do biocatalisador contendo a enzima TLL suportada; a outros dois erlenmeyers adicionou-se 50 mg do biocatalisador contendo a enzima RML suportada e a mais outros dois adicionou-se 50 mg do biocatalisador contendo a enzima CALB suportada. No último erlenmeyer não acrescentamos nada (contém somente os 0,5 mL da mistura de ácido butírico, butanol e hexano adicionados anteriormente). Todos os erlenmeyers foram colocados em banho-maria a 40°C com agitação durante 3 horas. Após isso, cada erlenmeyer foi titulado com NaOH 0,0025 mol.L⁻¹.

Com as atividades enzimáticas lidas no UV-VIS calculamos o rendimento, a eficiência e a atividade recuperada para cada biocatalisador. O biocatalisador contendo a enzima TLL suportada apresentou um rendimento de 95,92%, uma eficiência de 17,67% e uma atividade recuperada de 16,95%. Por sua vez, o biocatalisador contendo a enzima RML suportada apresentou os seguintes resultados: 21,38% de rendimento de imobilização, 9,09% de eficiência e 1,94% de atividade recuperada e o biocatalisador contendo a enzima CALB suportada apresentou 68,12% de rendimento de imobilização, 49,06% de eficiência e 33,42% de atividade recuperada.

Pela síntese do butilbutirato, obteve-se os seguintes resultados de conversão: o biocatalisador contendo a enzima TLL suportada apresentou 5,87% de conversão, enquanto a RML 1,50% e a CALB 72,44%.

Pôde-se concluir através dos dados obtidos que o biocatalisador suportado com a enzima CALB apresentou maior conversão para a síntese do éster flavorizante, butanoato de butila, quando comparado com os biocatalisadores contendo as enzimas TLL e RML imobilizadas. Portanto, o biocatalisador contendo a enzima CALB suportada é bastante promissor para a produção de ésteres flavorizantes, sendo uma aplicação relevante na indústria alimentícia.