



## Síntese e caracterização de materiais magnéticos à base de sílica e magnetita natural para imobilização de lipase

Rafaela de Andrade (IC), Edilson V. Benvenutti (PQ)

Laboratório de Sólidos e Superfícies

www.iq.ufrgs.br/lss

### INTRODUÇÃO

- Lipases são biocatalisadores versáteis, pois possuem propriedades régioesletivas e enantio-seletivas.
- Busca-se imobilizar essa enzima em suportes sólidos, facilitando sua recuperação do meio reacional.
- O uso de magnetita ( $Fe_3O_4$ ) sintética no design de suportes magnéticos tem sido aplicado, entretanto sua síntese é dispendiosa e gera resíduos.
- A magnetita é um mineral abundante que ocorre naturalmente no nosso planeta, logo ela pode ser utilizada para se obter um suporte magnético para lipases.
- Nano-partículas de ouro possuem interações com a enzima lipase, além de aumentar a afinidade de enzima-substrato.
- Neste trabalho, dois materiais porosos e magnéticos MNX1 (65%  $Fe_3O_4$ ) e MNX2 (35%  $Fe_3O_4$ ) foram obtidos através da aplicação do método sol-gel na presença de magnetita natural pulverizada. Após, imobilizou-se nano-partículas de ouro na superfície (MNX1AuNp e MNX2AuNp), obtendo-se quatro potenciais suportes para a imobilização da enzima de *Thermomyces lanuginosus* (TLL).

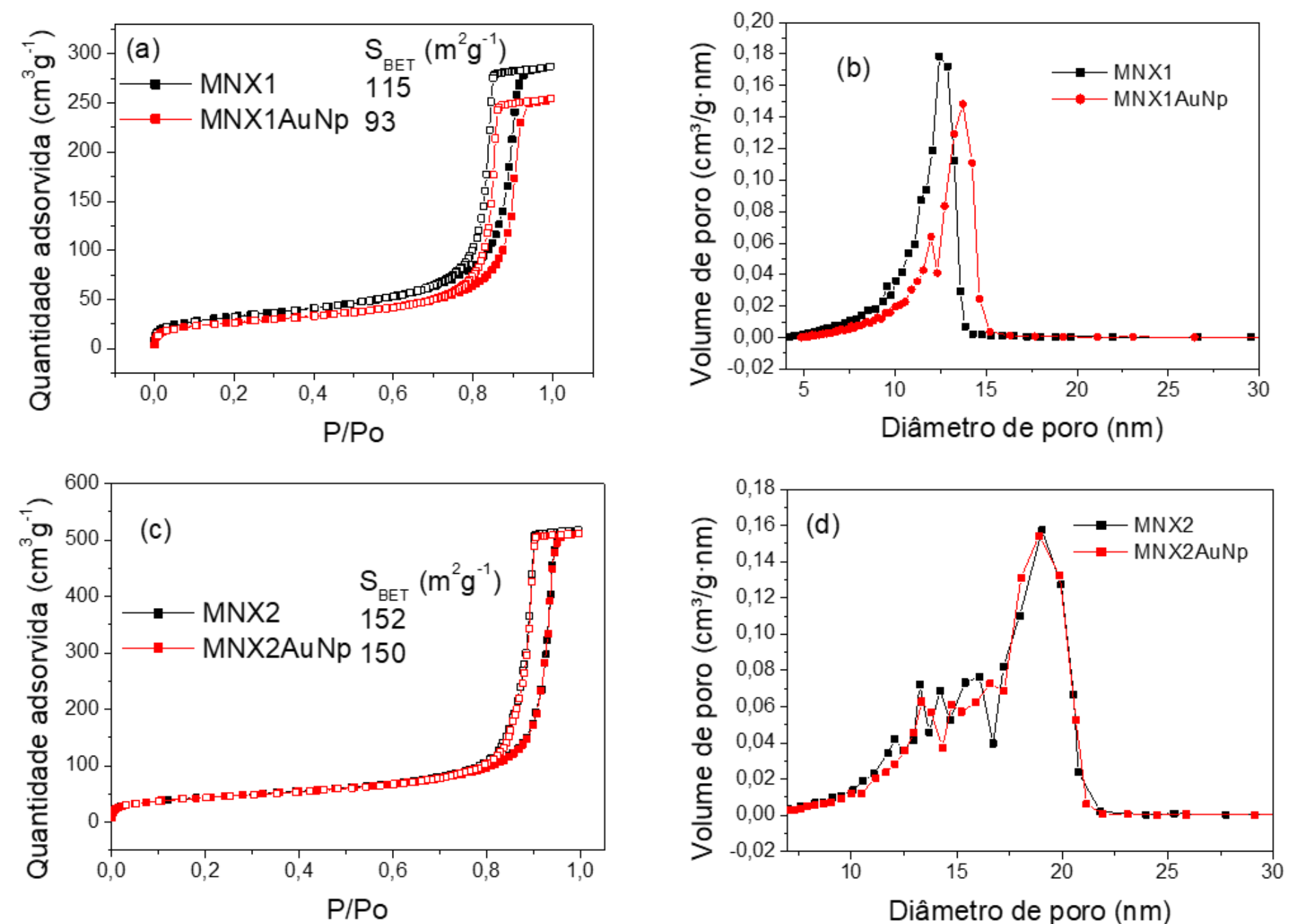
### EXPERIMENTAL

- **Síntese dos xerogéis:** Dispersou-se magnetita natural (de origem brasileira) em etanol absoluto sob agitação magnética. Após, TEOS (ortossilicato de tetraetila) e catalisador (HF e HCl em solução) foram adicionados e o solvente evaporou sob condições ambientes.
- **Imobilização das nano-partículas de ouro:** Uma dispersão de AuNp foi colocada em contato com os materiais durante 48 h sob agitação mecânica. Após, os materiais foram lavados, secos e denominados MNX1AuNp e MNX2AuNp.
- **Imobilização de Lipase:** Os recipientes contendo os materiais e a suspensão diluída (com tampão tris pH 7,5) de TLL foram mantidos sob agitação mecânica por 12 h. Na sequência, os materiais foram lavados com tampão.
- **Ensaio de atividade enzimática:** A reação de hidrólise de *p*-nitrofenilpalmitato foi utilizada, pois a liberação do produto pode ser acompanhada através do aumento na absorbância lida em espectrofotômetro ( $\lambda = 410$  nm) após oferecer substrato em excesso para as enzimas imobilizadas.

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

- Os difratogramas de raios X mostram os picos referentes a estrutura cúbica de face centrada da magnetita, o que indica que as modificações não influenciam na estrutura cristalina do mineral.
- Foi observado nas histereses de magnetização que o valor de saturação de magnetização diminui com aumento de conteúdo de sílica nos materiais e que a incorporação de AuNp não causa modificações na capacidade magnética dos suportes.
- A dispersão de AuNp foi caracterizada através de espectroscopia no UV-Vis, possuindo uma banda em 520 nm, característica de nano-partículas esféricas que não está presente quando se analisa sobrenadante e lavagens após contato com os materiais, indicando sua incorporação nos mesmos.
- A partir das isotermas de adsorção e dessorção de  $N_2$ , observou-se que o material MNX1 possui área superficial específica ( $S_{BET}$ ) menor que o material com maior proporção de sílica (MNX2) assim como diâmetro de poros menor, sendo o ponto máximo da curva de distribuição de poros de 12,4 nm para MNX1 e 19,0 nm para MNX2 (Fig 1).

- O acréscimo das nano-partículas de ouro não produz modificações significativas nas propriedades texturais do material MNX2, porém para o material MNX1 temos um decréscimo na área superficial específica, assim como um deslocamento no ponto máximo da curva de distribuição de poros para 13,7 nm (Fig 1).



**Figura 1:** Isotermas de adsorção e dessorção de  $N_2$  dos materiais (a) MNX1 e MNX1AuNp. (c) MNX2 e MNX2AuNp. Distribuição de tamanho de poros das amostras (b) MNX1 e MNX1AuNp e (d) MNX2 e MNX2AuNp.

- Através da tabela 1, é possível observar que o melhor valor de atividade enzimática em ( $U g^{-1}$ ) e foi obtido para o material MNX2 AuNp, possivelmente pelo material ter diâmetro de poros maior, possibilitando que o sítio ativo da enzima esteja mais exposto ao substrato.

**Tabela 1:** Médias de duplicatas de teste de atividade enzimática

Materiais	% de imobilização	Atividade ( $U g^{-1}$ )	Atividade recuperada (%)
MNX1	13,8	1,9	92,1
MNX1 AuNp	21,8	1,8	53,6
MNX2	17,8	2,1	74,8
MNX2 AuNp	15,5	2,6	110,2

### CONCLUSÕES

- Foi possível obter um material magnético com apreciável área superficial utilizando magnetita natural, o que diminui o tempo e os gastos na síntese de um suporte magnético, quando comparada ao uso de magnetita sintética.
- A incorporação de nano-partículas de ouro nos materiais foi realizada com êxito
- Testes preliminares de atividade enzimática mostraram resultados promissores para o suporte com maiores poros (MNX2 e MNX2AuNp), sendo necessário a otimização dos parâmetros de imobilização.

### AGRADECIMENTOS