

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO SECRETARIA DE EDUCAÇÃO PROFISSIONAL E  
TECNOLÓGICA INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA  
DE SANTA CATARINA CAMPUS JARAGUÁ DO SUL

ALANA GABRIELA ROCHA

AMANDA CAROLINE DO NASCIMENTO

ANDRÉ JORDÍ VOLKMANN

CAROLINE FOSSILE

JÉSSICA MARA MACHADO

ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA POR LIPASES PRESENTES NO LÁTEX DA  
PLANTA *Euphorbia tirucalli* NAS CONDIÇÕES BRUTA E IMOBILIZADA EM  
BIOFILMES DE AMIDO DA *Solanum tuberosum*

Projeto de Pesquisa

Conectando Saberes

Curso Técnico em Química (modalidade: Integrado): 5ª Fase

JARAGUÁ DO SUL

2017

ALANA GABRIELA ROCHA

AMANDA CAROLINE DO NASCIMENTO

ANDRÉ JORDÍ VOLKMANN

CAROLINE FOSSILE

JÉSSICA MARA MACHADO

**ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA POR LIPASES PRESENTES NO LÁTEX DA  
PLANTA *Euphorbia tirucalli* NAS CONDIÇÕES BRUTA E IMOBILIZADA EM  
BIOFILMES DE AMIDO DA *Solanum tuberosum***

Projeto de pesquisa desenvolvido no eixo formativo “Conectando Saberes” do Curso Técnico em Química (Modalidade: Integrado) de Instituto Federal de Santa Catarina – Campus Jaraguá do Sul.

Orientador: Elder Correa Leopoldino.

Coorientadora: Luciana Valgas de Souza.

JARAGUÁ DO SUL

2017

## SUMÁRIO

<b>1 TEMA.....</b>	<b>5</b>
<b>2 DELIMITAÇÃO DO TEMA.....</b>	<b>5</b>
<b>3 PROBLEMA.....</b>	<b>5</b>
<b>4 HIPÓTESES.....</b>	<b>5</b>
<b>5 OBJETIVOS.....</b>	<b>5</b>
<b>5.1 Objetivo geral .....</b>	<b>5</b>
<b>5.2 Objetivos específicos.....</b>	<b>6</b>
<b>6 JUSTIFICATIVA.....</b>	<b>6</b>
<b>7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>7</b>
<b>7.1 História e propriedades da planta.....</b>	<b>7</b>
<b>7.2 Biocatalisadores .....</b>	<b>9</b>
<b>7.2.1 Enzimas .....</b>	<b>10</b>
<b>7.3 Ésteres.....</b>	<b>12</b>
<b>7.4 Esterificação enzimática.....</b>	<b>14</b>
<b>7.5 Imobilização.....</b>	<b>15</b>
<b>7.6 Biofilmes de amido .....</b>	<b>17</b>
<b>8</b>	
<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>19</b>
<b>8.1 Extração do látex.....</b>	<b>19</b>
<b>8.2 Extração do amido do rejeito da batata.....</b>	<b>19</b>
<b>8.3 Produção de biofilmes.....</b>	<b>20</b>
<b>8.4 Síntese do éster.....</b>	<b>20</b>
<b>8.5 Caracterizações.....</b>	<b>21</b>
<b>8.5.1 Caracterização do látex e do biofilme.....</b>	<b>21</b>
<b>8.5.2 Caracterização do éster.....</b>	<b>22</b>

<b>9 TRATAMENTO DE RESÍDUOS.....</b>	<b>23</b>
<b>10 CRONOGRAMA.....</b>	<b>23</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>24</b>

## **1 TEMA**

Esterificação via catálise enzimática por lipases presentes no látex da planta *Euphorbia tirucalli* nas condições bruta e imobilizada em biofilmes de amido da *Solanum tuberosum*.

## **2 DELIMITAÇÃO DO TEMA**

Comparação do potencial catalítico na síntese do acetato de isoamila com a utilização de lipases provenientes do látex da planta *Euphorbia tirucalli* nas condições bruta e imobilizada em biofilmes de amido da casca da *Solanum tuberosum*.

## **3 PROBLEMA**

Hodiernamente, a produção de ésteres de aroma através da catálise enzimática é algo factível e que, segundo Rocha *et al.* (2017), pode-se utilizar a lipase presente na planta *Euphorbia tirucalli* como biocatalisador da reação de esterificação. Considerando que a planta possui látex em abundância, pode-se obter uma catálise mais eficiente utilizando o látex da *Euphorbia tirucalli* bruto se comparado à ele imobilizado em biofilme?

## **4 HIPÓTESES**

1. Será possível imobilizar o látex no biofilme.
2. A reação de esterificação utilizando o látex imobilizado terá maior facilidade no manuseio em relação ao látex bruto.
3. A reação contendo látex imobilizado apresentará produtos finais mais puros em relação ao látex bruto.
4. A reação do látex imobilizado necessitará de maior tempo reacional.
5. A reação utilizando o látex bruto terá maior rendimento que a imobilizada.

## **5 OBJETIVOS**

### **5.1 Objetivo geral**

Verificar o potencial catalítico das lipases contidas no látex da planta *Euphorbia tirucalli*, nas condições bruta e imobilizada em biofilmes de amido na produção do acetato de isoamila.

## 5.2 Objetivos específicos

- Extrair o látex da planta *Euphorbia tirucalli* com cortes perpendiculares ao caule da planta.
- Produzir biofilmes de amido seguindo a metodologia de *Castting*.
- Imobilizar o látex nos biofilmes de amido.
- Realizar esterificações utilizando o látex bruto e imobilizado nos filmes de amido.
- Acompanhar a formação de produtos a partir da técnica de CCD.
- Comparar os resultados obtidos das sínteses utilizando o látex bruto e imobilizado nos biofilmes de amido.

## 6 JUSTIFICATIVA

As espécies de *Euphorbiaceae* possuem uma ampla diversidade e utilidade medicinal, detém-se de mais de 1100 espécies, sendo essas, nativas ou aclimatadas no Brasil. Ressalta-se que algumas famílias botânicas pertencentes ao gênero *Euphorbia* não foram comprovadas referente ao uso medicinal, entretanto, essas plantas apresentam qualificação relevante no conhecimento popular há muito tempo, que segundo Trindade *et al.* (2014) em tratados de filosofia e medicina na história das civilizações orientais e ocidentais como a hindu, chinesa, árabe e greco-romana.

Na presente pesquisa, utiliza-se o látex da *Euphorbia tirucalli* pertencente à família citada anteriormente, popularmente conhecida como Aveloz. Oriunda da África, a planta estabelece um vasto uso popular relacionado à medicina. Em suas características, inclui-se o látex considerado tóxico e, esse contém em sua composição uma enzima denominada lipase que tem como função catalisar reações de hidrólise, onde temos como exemplo a reação de esterificação (VARRICCHIO *et al.*, 2008).

Ressalta-se que já foi desenvolvido um estudo envolvendo a planta Aveloz por Rocha *et al.* (2017), cujo projeto relaciona-se com esterificações enzimáticas utilizando o látex imobilizado na própria planta, *Euphorbia tirucalli*.

Referente às reações de esterificação, para ocorrer é necessário o uso de catalisadores, substâncias que possibilitam um aumento na velocidade de uma reação química, pois diminuem a energia de ativação (DIAS *et al.* 2012). Hodiernamente, existem diversos tipos de catálise, como a catálise ácida, alcalina, heterogênea, homogênea, enzimática, entre outras. Ressalta-se que a biocatálise inclui-se na química verde, tornando-se ambientalmente mais segura que as demais. Dentre as vantagens de utilizar enzimas como catalisador, segundo Dias *et al.* (2012), permite maior economia de energia, geralmente culminando na diminuição dos custos operacionais para obtenção do produto.

A obtenção de um biocatalisador com atividade e estabilidade é o principal objetivo de se utilizar uma enzima imobilizada em suportes sólidos, e entre os mais utilizados, pode-se citar o filme de amido, que segundo Ledra (2009) possui várias vantagens como boas propriedades mecânicas, resistência a solvente de baixa polaridade, hidrofobicidade, atoxicidade, e o fato de serem biodegradáveis e de baixo custo. Ressalta-se que dentre as fontes do amido, tem-se o milho, mandioca, batata e, além disso, é possível utilizar os rejeitos provenientes das cascas que não possuem finalidade econômica. Porém, por conta das enzimas serem altamente específicas, não há um método aplicável de imobilização para todas elas, mesmo com a grande diversidade de métodos que acabaram sendo desenvolvidos (MENONCIN *et al.*, 2008; MENDES *et al.*, 2011; LEDRA, 2009).

Em suma, no que se refere às vantagens citadas da biocatálise, essa pode ser considerada ecologicamente aceitável. Ademais, ressalta-se que a sua imobilização ocorrerá através de um biofilme proveniente de um rejeito vegetal, sendo este, a casca da batata. Logo, aprimora-se o quesito de sustentabilidade do método de biocatálise (LAU; GROSSE, 2013; LENARDÃO *et al.*, 2003; SHELDON; ARENDS; HANEFELD, 2007 *apud* SILVA, 2015).

## **7 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **7.1 História e propriedades da planta**

Também conhecida como Aveloz, a *Euphorbia tirucalli* é uma planta da família *Euphorbiaceae* que teve sua origem no continente africano e foi trazida ao Brasil há mais de cem anos, no estado de Pernambuco, estando presente em todas as regiões de clima seco do país, principalmente no Nordeste. A planta pode ser caracterizada como uma espécie arbustiva, podendo chegar aos 7 metros de altura (NOGUEIRA, 2012).

A planta Aveloz cresce com uma rapidez moderada, prosperando em climas quentes. Possui ramos verticiliados, com os galhos podendo produzir de 2 a 4 ramos por nó, como pode ser visto na **Figura 1**. Pode chegar a apresentar folhas pequenas e até floração, porém ambas permanecem por um curto tempo. No Brasil, ainda é conhecida como graveto-do-cão, figueira-do-diabo, dedo-do-diabo, dedo-do-cão, pau-pelado, árvore de São Sebastião (NOGUEIRA, 2012 *apud* VOIGT, 2007).



**Figura 1.** Foto da planta *Euphorbia tirucalli*, também conhecida como Aveloz e pau-pelado.

**Fonte:** <http://www.rain-tree.com/Plant-Images/aveloz-pic.htm#.WDJiCtrlLIU>

Como já foi mencionado, existem diversas aplicações medicinais da planta, possuindo uma vasta literatura de seu uso nas ciências farmacêuticas e biológicas, com suas raízes sendo utilizadas para picadas de cobras e sangramentos e seu látex sendo utilizado para tratar diversas doenças (NOGUEIRA, 2012; WACZUK, 2014).

O Aveloz ainda foi usado para diversas funções, por exemplo, na produção de borracha durante a Segunda Guerra Mundial e como substituto da gasolina, principalmente nos Estados Unidos e nos países árabes. Também pode ser utilizada como “cerca viva” em lavouras agrícolas ou propriedades (NOGUEIRA, 2012 *apud* FURSTENBERGER e HECKER, 1986; NOGUEIRA, 2012 *apud* SALAH-ZAYED *et al.*, 2001; WACZUK, 2014 *apud* LORENZI; MATOS, 2002).

Quando ferido, os galhos da planta liberam um látex de cor branca que é formado por:

[...] óleos essenciais (eugenol), hidrocarbonetos terpênicos, aldeídos, látex, goma tirucalli, resina, diterpenos do tipo tigliano (ésteres de forbol) e ingenano (ésteres de ingenol), 4-desoxi-forbol e 12-O-tetradecanoil forbol-13-acetato, 12-O-(22) (4E)-octadienol-4-deoxiforbol-13-acetato, ácido 3,3'-di-O-metil-elágico, beta-sitosterol, ácido cítrico, ácido elágico, eufol, euforona, glucose, hentriacontanol, isoeuforal, kaempferol, ácido málico, sapogenina-acetatos, ácido succínico, taraxasterol, taraxerina e tirucalol (NOGUEIRA, 2012).

Esse látex é considerado tóxico por causar lesões em contato com a pele, por exemplo, edema na boca, lábios e língua e lesões na córnea levando à cegueira temporária e, se for ingerido, pode causar vários inconvenientes, como náuseas, vômito e diarreia (WACZUK, 2014; SILVA *et al.*, 2013; NOGUEIRA, 2012).

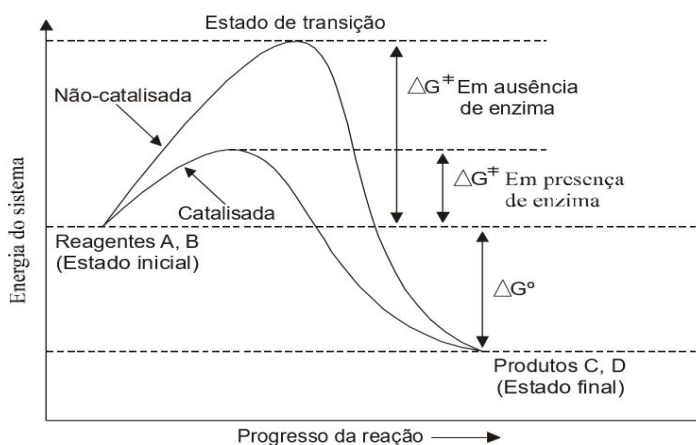
Em 1978, o médico brasileiro Lauro Neiva utilizou o látex diluído em água para tratar doenças como câncer e doença de Chagas. Ele também já foi utilizado contra dores de dente, dores de ouvido, reumatismo, verrugas, tosse, neuralgia e picadas de escorpião, impotência sexual, epilepsia, asma, aumento do baço, cólicas, tumores, lepra e hemorroidas. O látex contém ainda lipases que não foram objetos de muito estudo que podem ser utilizadas como biocatalisadores (SILVA *et al.*, 2013; WACZUK, 2014 *apud* KUMAR, 1999; WACZUK, 2014).

## **7.2 Biocatalisadores**

Os biocatalisadores, ou catalisadores biológicos, são proteínas que desempenham a função de acelerar reações no organismo, transformando uma grande variedade de substâncias naturais ou não, em ambiente aquoso ou orgânico (CORTEZ *et al.*, 2016).

No âmbito da química, as reações podem ser catalisadas por enzimas, caracterizadas como proteínas biocatalisadoras que, diferente dos catalisadores metálicos, agem como um reagente ambientalmente favorável durante os processos químicos, visto que são, de acordo com Cortez *et al.* (2016), completamente degradáveis e realizados sob condições operacionais mais brandas.

Outrossim, dentre as vantagens destacam-se a elevada velocidade de reação, como observado na **Figura 2**, e, em alguns casos, as enzimas podem catalisar as reações nos dois sentidos, apresentando ainda determinada seletividade quanto ao tipo de reação que catalisam (PAQUES & MACEDO, 2004).



**Figura 2.** Diagrama energético de reação catalisada e não-catalisada.

**Fonte:** MOTTA, 2007.

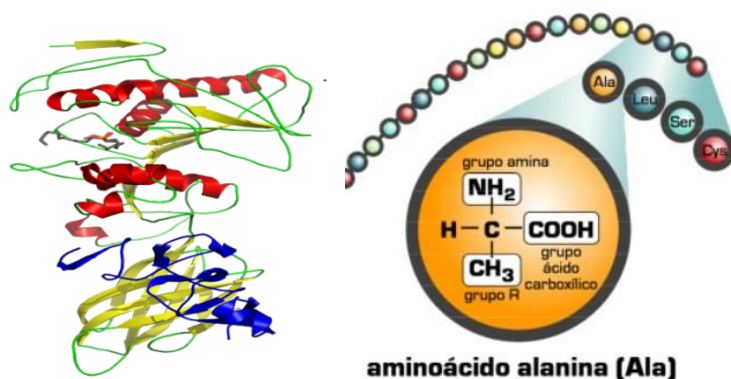
Por conseguinte, os catalisadores propiciam a diminuição da energia livre de ativação apoiados na escolha de rotas potenciais que assegurem a formação de produtos através da menor energia que viabilize as reações, consequentemente aumentando sua velocidade (MOTTA, 2007).

Em suma, a biocatálise é uma das áreas mais promissoras no que diz respeito às novas tecnologias para síntese de compostos de alto valor agregado. A exploração da biodiversidade na busca de novos catalisadores através de técnicas de seleção de microrganismos, plantas ou células animais representam os métodos tradicionais responsáveis pela descoberta de novas enzimas que promovem o desenvolvimento da biocatálise em escala industrial (CARVALHO *et al.*, 2005 apud. DERMIJIAN & MORIS-VAS, 1999).

### **7.2.1 Enzimas**

As enzimas em sua grande maioria são proteínas biocatalíticas, que tem como principal função acelerar a velocidade de uma série de reações de acordo com suas respectivas especificidades (Souza, 2006). Por sua vez, são formadas por uma sequência de aminoácidos, os quais são responsáveis por sua estrutura e

consequentemente a forma de interação no meio reativo (MOREIRA, 2008 e VESCOVI, 2012), como representado na **Figura 3**.



**Figura 3.** À esquerda representação estrutural da enzima lipase. À direita a estrutura do aminoácido alanina, como exemplo de uma parte da proteína.

**Fonte:** Site Head codes.

Consoante ao autor Lehninger *et al.* (2013), diferentemente de outras proteínas, as enzimas apresentam especificidade e atividade catalítica consideravelmente superiores se comparadas aos catalisadores não enzimáticos, podendo aumentar a velocidade da reação em um fator de até  $10^{17}$  vezes, enquanto os não enzimáticos limitam-se de  $10^2$  à  $10^4$  vezes.

De acordo com Gris (2010), por apresentarem tais propriedades, são sensíveis a mudanças no ambiente como mudança de pH e temperatura. Caso as condições de atuação da enzima não sejam ideais, essas podem ter sua atividade catalítica diminuída ou até serem desnaturadas. Segundo Neto (2002), as principais causas de desnaturação de enzimas são as próprias temperaturas elevadas.

As enzimas também têm as atividades alteradas em função do pH, temperatura, força iônica e polaridade do meio, apresentando atividade máxima quando estes parâmetros são ótimos, o que depende da origem do organismo que sintetiza determinada proteína. (MOREIRA, Marcelo Alves. p.9, 2008)

“As enzimas podem atuar em condições brandas de pH e temperatura e, isto minimiza problemas como reações paralelas e decomposição de produtos” (SILVA, 2015). Logo, além de melhorar os rendimentos de reações, não são consumidas durante a mesma, não alterando assim o equilíbrio da reação (GRIS, 2010).

Segundo o autor Neto (2002), Yess *et al.*, estudaram a síntese do éster butirato de citronelila e caproato de geranila, onde obtiveram os melhores rendimentos com pH próximos à neutralidade e com faixa de temperatura que variava dos 30 aos 50 °C. Similarmente, a autora Gris obteve um rendimento de 95,9% para os ésteres acetato de vinila e acetato de butila a 26 °C. Cai *et al.* obtiveram 72,25% de rendimento na síntese do serinato de miristila a 30 °C.

Por conta da especificidade das enzimas, a União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (UIBBM) divide as enzimas em seis grupos: oxidorreductase, transferases, hidrolases, liases, isomerases e ligases, as quais apresentam ainda subdivisões, segundo Vescovi (2012). Dos seis grupos, cinco são utilizados em química orgânica, sendo as hidrolíticas as mais utilizadas por apresentarem “[...] alta estabilidade e atividade com relação a vários substratos, são de baixo custo, atuam em condições suaves de sínteses e, em geral, não necessitam de co-fatores” (LEDRA, 2009).

As enzimas hidrolíticas em geral, possuem inúmeras aplicações, dentre elas destaca-se a indústria alimentícia, com a produção de aromas artificiais (Colla *et al.*, 2012). Dentre as enzimas hidrolíticas estão as lipases, que como citado anteriormente, hodiernamente vem sendo utilizadas como catalisadores de reações de esterificação. Ledra (2009) realizou a esterificação utilizando lipases comerciais para o acetato de cinamoíla, onde obteve 75,2% de rendimento com temperatura em torno dos 35 °C.

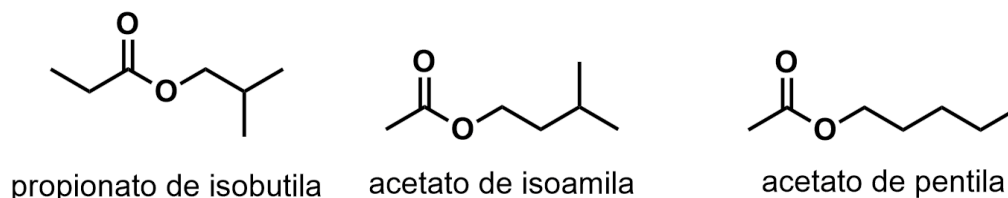
De acordo com Moreira (2008) as lipases são muito utilizadas em química orgânica em virtude de sua grande disponibilidade, já que, segundo Vecchia (2003) as lipases podem ser obtidas por meio de microorganismos bem como células animais ou através de plantas.

Além de serem empregadas para produção de ésteres, também podem ser aplicadas na fabricação de detergentes, na área alimentícia, de fármacos, biodiesel, assim como nas indústrias de óleos, entre outros (Ledra, 2009).

### **7.3 Ésteres**

Os compostos orgânicos denominados de ésteres são derivados de ácidos carboxílicos (MCMURRY, 2009, pp. 132-154). A **Figura 4** demonstra algumas

estruturas de ésteres que possuem um aroma característico presentes em alimentos.

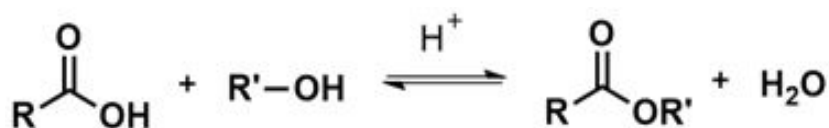


**Figura 4.** Estrutura de alguns ésteres utilizados como aromatizantes.

**Fonte:** Oliveira *et al*, 2014.

Dentre as formas de obtenção desses compostos orgânicos, tem-se a reação de esterificação, essa envolve um ácido carboxílico que refere-se ao grupo hidroxila ligado a uma carbonila, ademais, na reação encontra-se o álcool, composto por a hidroxila ligada ao radical alquila. Sendo assim, ocorre uma substituição da hidroxila do ácido por um radical OR' proveniente do álcool, ocorrendo a formação do éster e água (MCMURRY, 2009, pp. 132-154).

Ademais, para a presente reação ocorrer, torna-se necessário o uso de um catalisador (OLIVEIRA *et al.* 2014). Tem-se como demonstração, na **Figura 5**, a reação de esterificação que envolve uma catálise ácida, referente a esterificação de Fischer.



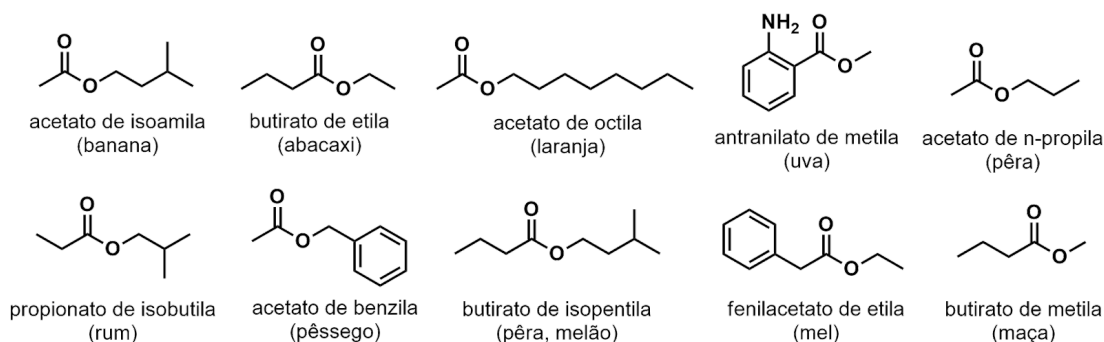
**Figura 5.** Esquema geral de uma reação de esterificação de Fischer em meio ácido.

**Fonte:** Elaborada pelos autores.

Os ésteres são relevantes no ramo industrial, pois estão presentes em diversos setores como na indústria alimentícia (bebidas alcoólicas e doces), farmacêutica (revestimento de fármacos), cosmética (fragrâncias), têxtil (fibras de tecidos), polimérica (garrafas PET), entre outras (OLIVEIRA *et al.*, 2014).

Ademais, esses compostos são encontrados constantemente na natureza, precipuamente em flores e frutos, pois a maioria dos ésteres presentes são de baixo peso molecular, proporcionando assim, um aroma agradável e alta volatilidade.

Relacionado aos frutos e o seu aroma, segundo Oliveira *et al.* (2014), durante o amadurecimento, as bananas produzem substâncias voláteis, como o acetato de isoamila, o principal responsável pelo seu aroma. Demonstra-se na **Figura 6** sua estrutura e de outros ésteres presentes em alimentos.



**Figura 6.** Estrutura química de algumas moléculas responsáveis pelo sabor e fragrância de alimentos.

**Fonte:** Elaborada pelos autores baseada em MEDEIROS, 2008.

Em suma, os ésteres estão presentes frequentemente em nosso cotidiano devido sua ampla aplicação industrial e para obter um produto através de processos mais eficientes e sustentáveis inclui-se a área da enzimologia.

#### 7.4 Esterificação enzimática

Dentre as diversas áreas biotecnológicas, a aplicação de processos enzimáticos é uma das alternativas mais promissoras, no que se refere à substituição de metodologias convencionais, sendo empregadas industrialmente em diversos processos, dos quais encontram-se: a produção de papel; tecidos; detergentes; alimentos; couro; cosméticos; biocombustíveis; e produtos de química fina (GONÇALVES & MARSALOLI, 2013).

Outrossim, a síntese enzimática envolvendo lipases é um processo alternativo para a produção de ésteres e, devido à especificidade das enzimas utilizadas, proporcionam a redução de gastos energéticos e possibilitam práticas menos agressivas no decorrer das reações, reduzindo ainda os custos de separação, purificação e tratamento de resíduos. Devido às preocupações sustentáveis e ambientais durante as reações, as sínteses enzimáticas têm despertado grande

interesse industrial, sendo relacionadas ao conceito 'biotecnologia industrial' (TSUKAMOTO, 2006).

As lipases, segundo Ayres (2014), podem ser inseridas no meio reacional na forma livre ou imobilizada, visto que, as técnicas de imobilização tencionam-se a evitar etapas de separação da enzima do meio reacional complexas e o aumento da atividade enzimática, pois reduz efeitos sobre a estrutura conformacional da proteína. Por consequência, para aumentar sua estabilidade e tornar sua reutilização possível, métodos de imobilização vêm sendo largamente utilizados, facilitando a separação do produto final, protegendo a enzima e aumentando a sua estabilidade em solventes orgânicos (SILVA, 2015 *apud* DRAUZ *et al.*, 2012; MATEO *et al.*, 2007; SHELDON; VAN PELT, 2013).

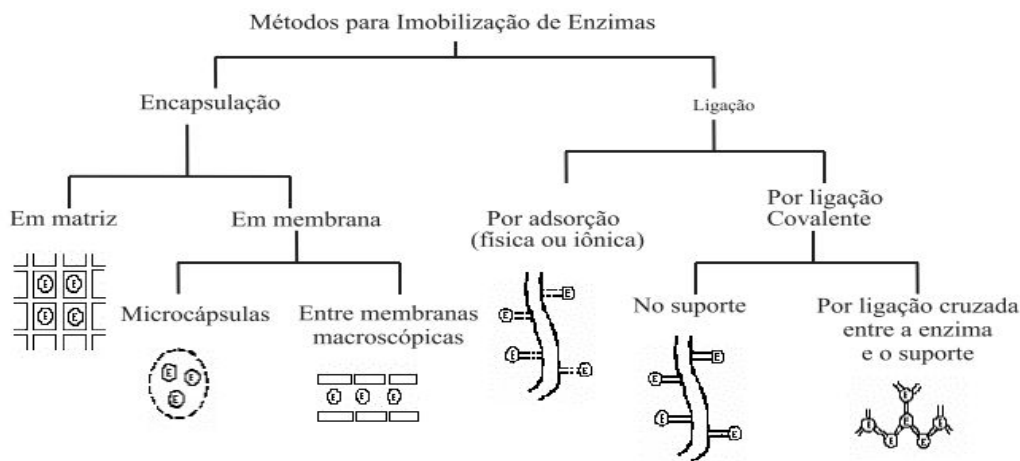
### **7.5 Imobilização**

Doravante, o impulso para elaborar pesquisas ou buscar projetos referentes à imobilização de biocatalisadores torna-se superior quando relacionado com alguns anos passados. Segundo Giese (2015), foi observado para a publicação de artigos com a temática enzimas imobilizadas, o qual evoluiu de 328 manuscritos em 1995 para 1272 artigos publicados em 2013.

A drástica mudança relaciona-se ao aprimoramento da área da enzimologia, no quesito que diz respeito à imobilização das enzimas, ademais, devido aos biocatalisadores possuírem uma alta capacidade catalítica, obtém-se uma significativa eficiência em circunstâncias reacionais. Entretanto, essa característica de ser cataliticamente ativa pode sofrer interrupções através de fatores químicos, físicos ou biológicos. Logo, torna-se eficiente o uso de um processo que as imobilize, para protegê-las da interação com o solvente, que pode interferir negativamente no decorrer da reação (NASCIMENTO *et al.*, 2015).

A técnica de imobilização pode ser desenvolvida por distintos processos que possuem diferentes características, um exemplo é a adsorção ou ligação da enzima em um suporte insolúvel, onde a enzima será imobilizada através de reações químicas. Além disso, tem-se a modificação por ligação covalente no suporte ou por ligação cruzada, que, segundo Nascimento *et al.* (2015), a enzima fica fixa em uma matriz através de resíduos de aminoácidos. Outro procedimento, por exemplo, é o

confinamento em matriz polimérica ou em cápsulas insolúveis. Em relação às microcápsulas, ocorre o surgimento de uma cela artificial na membrana porosa e apenas os substratos e produtos se difundem. Em contraparte, as enzimas que são moléculas grandes não conseguem difundir, logo, essa não interage com o polímero (NASCIMENTO *et al.*, 2015). Demonstra-se esquematicamente os processos citados anteriormente através da **Figura 7**.



**Figura 7.** Esquema de distintos processos para imobilização de enzimas.

**Fonte:** Nascimento *et al.*, 2015.

Ou seja, a imobilização é uma técnica que consiste na fixação de catalisadores, inserindo a enzima dentro ou acima do agente imobilizador, contemplando ainda a sua capacidade catalítica (TAMPION; TAMPION, 1988; GASHTASBI; AHMADIAN; NOGHABI, 2014 *apud* GIESE, 2015).

Inúmeros componentes influenciam no processo de imobilização, sendo assim, na escolha de um biocatalisador, a quantidade de água, o solvente utilizado, a solubilidade dos substratos e produtos são significantes para a técnica ocorrer corretamente (NASCIMENTO *et al.*, 2015).

A utilização de água no meio reacional é indispensável devido à solvatação da enzima ou dos substratos e produtos, entretanto, ressalta-se que a quantidade é mínima, pois, caso ultrapassar, irá favorecer a reação de hidrólise. Segundo Nascimento *et al.* (2015), as enzimas necessitam de uma pequena quantidade de água para reter a sua conformação tridimensional ativa, mesmo quando estão ligadas covalentemente a um suporte.

Relacionado ao solvente, o que influencia é o coeficiente de partição do solvente no sistema octanol/água. Ou seja, com um coeficiente inferior a 2, tem-se uma interação água-biocatalisador. E superior a 4, o solvente é hidrofóbico, não interagindo com a água, logo, o biocatalisador permanece no seu estado ativo (LAANE *et al.*, 1987 *apud* NASCIMENTO *et al.*, 2015).

No que se refere ao suporte, este deve permitir à acessibilidade da enzima ao substrato e ressalta-se que a utilização de suportes hidrofílicos podem interferir negativamente na capacidade catalítica da enzima, pois assim ocorre uma atração pela água do meio (NASCIMENTO *et al.*, 2015).

O suporte a ser utilizado na presente pesquisa é o biofilme de amido proveniente da casca da batata, por ser um polímero biodegradável não é totalmente hidrofílico, sendo assim, eficiente para a técnica de imobilização. Ressalta-se que esse polímero torna-se dessemelhante dos sintéticos devido a substituição dos derivados do petróleo por matérias-primas (SILVA, 2011).

Além do mais existem outras matérias-primas para produção de biofilmes, Junior *et al.* (2016) reportam o uso de biofilmes de quitosana com inserção de óleo essencial de alecrim para o aumento da atividade antibacteriana.

Em suma, é possível desenvolver biofilmes de diversas fontes e no que se refere ao biofilme de amido, amplia-se a sua derivação vegetal, como a mandioca, batata, milho, entre outros.

## **7.6 Biofilmes de amido**

De acordo com a autora Gomes (2008) biofilmes são filmes obtidos a partir de macromoléculas biológicas, como polissacarídeos (amido, celulose e gomas) ou proteínas (gelatina, glúten, zeína) e lipídios. Consoante Ledra (2009) os filmes produzidos a partir dessas macromoléculas contribuem para que haja um aumento da biocompatibilidade entre suporte e biocatalisador, o que beneficia a atividade enzimática.

A obtenção desses filmes pode ser feita, conseguinte a autora Silva (2015), a partir de polímeros naturais, como a quitosana, celulose, agarose, gelatina, e amido, como mostra o trabalho realizado por Ledra (2009).

Segundo a autora Silva (2015) o amido é um polissacarídeo heterogêneo, composto principalmente por dois polímeros de  $\alpha$ -D-glicose, a amilose e a amilopectina, e pequenas quantidades de lipídios e proteínas. As quantidades de amilose e amilopectina são variadas de acordo com a espécie vegetal e o grau de maturação da planta, entretanto, normalmente os amidos apresentam cerca de 20-30% de amilose e 70-80% de amilopectina.

O amido é um dos biopolímeros mais utilizados para compor materiais biodegradáveis pelo seu custo e disponibilidade. Os tipos de amido utilizados para este fim podem ser naturais, obtidos de diversas fontes vegetais, ou modificados. (HENRIQUE; CEREDA; SARMENTO, 2008). Dentre essas fontes vegetais, destacam-se alguns tubérculos e grãos, como: o milho, o arroz, a mandioca, o trigo, a batata e até mesmo rejeitos provenientes desta, como a casca. (GRIS, 2011; LEDRA, 2009; SILVA 2015). É possível observar essas fontes na **Figura 8**.



**Figura 8.** Exemplos de fontes vegetais, tubérculos e grãos, de amido.

**Fonte:** Desenvolvida pelos autores.

Dentre as fontes citadas, de acordo com Neves *et al.* (2013) *apud* Balsalobre (1995), a batata (*Solanum tuberosum*) possui uma grande quantidade de rejeitos descartados, sendo estes a casca e resto de polpa, totalizando 35% do total da produção. No Brasil, estima-se que mais de 300 mil toneladas de rejeitos provenientes da batata são descartados anualmente, sendo encontrado aproximadamente 25,6% de amido nestes, de forma que torna-se viável a utilização da casca da batata para produção de biopolímeros, diminuindo impactos ambientais e contribuindo para a sustentabilidade.

Segundo Ledra (2009) a obtenção de biofilmes de amido pode ser dada através da mistura de amido com polióis, como glicerol e sorbitol. Essa mistura irá gerar uma massa amorfa que pode ser transformada em filmes, estes, totalmente biodegradáveis, devido à ausência de polímeros sintéticos no processo de fabricação. O uso destes polióis fornece ao filme maleabilidade, servindo de lubrificante interno para as moléculas de amido e prevenindo a retrogradação.

## **8 METODOLOGIA**

A metodologia proposta consiste na produção do acetato de isoamila, utilizando o látex da planta Aveloz nas formas bruto e imobilizado em biofilme de amido, e será composta por: extração do látex, extração do amido da casca da batata, produção de biofilme, síntese do éster e caracterização dos produtos. Todavia, devido à possíveis dificuldades durante a execução de tal, estipulou-se ainda uma segunda metodologia, que consiste em isolar a enzima e dar continuidade à metodologia padrão.

### **8.1 Extração do látex**

O látex a ser utilizado nas sínteses será obtido da planta Aveloz, localizada em São José - SC. Para a coleta deste, precipuamente será efetuada a limpeza da planta, a partir de uma lavagem com água torneiral e, em seguida serão realizados cortes perpendiculares aos seus ramos. O látex irá fluir até os coletores, e em seguida será disposto em um frasco de vidro e armazenado entre 6-10 °C por aproximadamente 48 h.

### **8.2 Extração do amido do rejeito da batata**

Para a extração do amido, será utilizado o processo descrito por Ledra (2009) e adaptado, que consiste em triturar as cascas da batata em um liquidificador junto com água em proporções equivalentes. Em seguida, serão filtradas e colocadas em repouso por cerca de 2h para decantar. Após isso, será descartado sobrenadante e o amido contido resíduo sólido decantado, será colocado na estufa em

aproximadamente 50°C por 24h para secar. Tendo o amido, será produzido o biofilme seguindo a metodologia de *Castting*.

### **8.3 Produção de biofilmes**

Para produção dos biofilmes de amido será utilizado o método de *Castting*, descrito por Neves *et al.* (2013), onde, feita a extração, o amido deverá ser solubilizado em água e submetido a aquecimento perante agitação mecânica, até que haja sua completa homogeneização.

Seguidamente, deve-se adicionar ácido clorídrico 0,1 mol/L e um agente plastificante, dos quais serão testados a glicerina, sorbitol e pva. Durante o processo, após a formação de uma massa densa, o conteúdo irá se liquefazer e então, será adicionado o hidróxido de sódio 0,1 mol/L. O fluido formado deverá ser acondicionado em uma placa de petri para secagem, na qual haverá a evaporação dos solventes e formação do polímero transparente desejado.

Caso seja necessário a utilização de uma metodologia alternativa, está seguirá de acordo com Alves (2015), que irá consistir em dispor a bucha vegetal em uma solução de peróxido de hidrogênio 30% por 24 h, seguidamente, a bucha será seca e cortada em pequenos cubos para posterior imobilização da lipase.

Para imobilização da lipase na bucha, pesará-se 550 mg desta em um erlenmeyer e, em seguida, serão adicionados 50 mL de solução tampão de fosfato de potássio. Passadas 24 h a bucha será transferida erlenmeyer contendo a quantidade desejada de lipase juntamente com 25 mL de hexano, o sistema será agitado por 30 min. Por fim o sistema será transferido para uma placa de petri e será seco em capela por 48 h.

### **8.4 Síntese do éster**

A partir da adaptação da metodologia empregada por Rocha *et al.* (2017) e da metodologia de Pimentel (2006), para realização das sínteses envolvendo o ácido acético e o álcool isoamílico, irá se partir do princípio de utilização de um reagente em excesso (20%), sendo este o álcool, que se apresenta como reagente mais

barato. As sínteses irão utilizar ainda o hexano como solvente e a água como solvente auxiliar, além do catalisador, que será utilizado de duas diferentes formas: bruto e imobilizado em biofilme de amido.

Para as sínteses utilizando o látex bruto, após a adição dos reagentes, serão adicionados pequenos volumes de látex sendo este 3, 6 e 9 mL, os quais podem sofrer variação conforme necessário. As reações envolvendo os biofilmes de amido irão utilizar o próprio biofilme, estando este também com variações de 3,6 e 9 mL de látex.

Com base na proporção estequiométrica e nas metodologias citadas anteriormente, serão utilizados 0,125 mols do ácido e 0,150 mols de álcool, já estando este 20% em excesso.

Os reagentes serão dispostos em um erlenmeyer que será fechado hermeticamente com rolha de borracha e submetido à agitação orbital em temperatura constante de 25 °C por aproximadamente 8 horas. Após o término da reação, fará-se uma purificação preliminar visando a remoção do ácido e álcool não reagidos e uma filtração simples para remoção do catalisador. O solvente será recuperado através de destilação com evaporador rotativo e, por fim, os produtos obtidos serão analisados e caracterizados.

## **8.5 Caracterizações**

Para caracterização do látex, do biofilme de amido e do produto obtido a partir das sínteses (ésteres), será utilizado da técnica de espectroscopia vibracional infravermelho (IV).

Ademais, para acompanhamento da síntese bem como análise dos ésteres provenientes das sínteses, será aplicado a técnica de cromatografia de camada delgada com os solventes hexano e acetato de etila, em proporções a serem definidas.

### **8.5.1 Caracterização do látex e do biofilme**

A caracterização do látex e do biofilme dará-se através do infravermelho, que segundo Haack (2010), é uma técnica baseada nas vibrações dos átomos de uma molécula, sendo possível determinar os grupos funcionais presentes na amostra.

Para realização da caracterização das substâncias desejadas, será utilizado o aparelho espectrofotômetro de infravermelho com transformada de Fourier e reflectância total atenuada (FTIR - ATR), modelo Perkin Elmer Spectrum Two, disponibilizado pelo IFSC - Instituto Federal de Santa Catarina, campus Geraldo Werninghaus, no qual será disposto cerca de 1 mL dos compostos e em seguida comparado as bandas de absorção obtidas com as encontradas na literatura.

As principais bandas de absorção características do biofilme de amido são, consoante Gomes (2008): ligações OH provenientes da absorção da água e COC provenientes das próprias ligações do amido. Já o látex, visto que este é composto por variadas substâncias, torna-se mais difícil a caracterização, entretanto, as principais bandas características a serem observadas são as de aminoácidos e da amida.

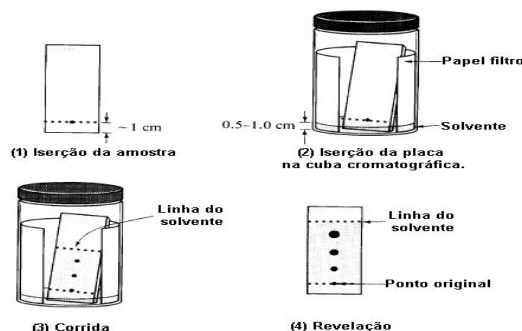
### **8.5.2 Caracterização do éster**

Para as análises através do infravermelho, será disposto cerca de 1 mL do éster obtido através da síntese no aparelho. Para os ésteres, as bandas de absorção características são: ligações C=O proveniente da carbonila, bandas de estiramento nas ligações C-O-C e C-C. Além disso, cada éster possuirá bandas de absorções específicas que os caracterizam, sendo possível identificar se houve a formação do acetato de isoamila. Já foram realizados diversos estudos que utilizam o infravermelho para análise de ésteres, como o trabalho de Medeiros (2008) e Oliveira *et al.* (2014), que utilizam da técnica para caracterização do produto final obtido através da síntese.

Com o objetivo de identificar a formação do produto final, será utilizado a cromatografia de camada delgada. Para esta técnica serão aplicadas com o auxílio de um capilar, pequenas quantidades da amostra sobre a placa de sílica (fase estacionária), devidamente preparada. Seguidamente, a placa será levada a cuba cromatográfica contendo hexano: acetato de etila 5:5 mL (solvente) conforme a metodologia utilizada por Rocha *et al.*, e por fim, levada ao vapor de iodo para que haja a revelação das manchas.

No que se diz respeito ao preparo da placa de sílica, adaptou-se a metodologia da apostila de química orgânica experimental da UFSC. A placa será

cortada em dimensões de 2x5 cm e traçadas linhas, a lápis, a 1 cm de distância das extremidades inferior e superior. As etapas desse processo podem ser observadas na **Figura 9**.



**Figura 9.** Representação das etapas de cromatografia em camada delgada  
**Fonte:** Apostila de química orgânica experimental da UFSC adaptada pelos autores.

Visto que, para identificação do produto final da síntese precisa-se de um padrão para comparação, irá-se utilizar padrões disponíveis no campus para tal. Após a revelação das manchas, as mesmas serão identificadas e serão calculados os fatores de retenção ( $R_f$ s) das amostras e dos padrões, para que então seja feita a análise do produto obtido.

## 9 TRATAMENTO DE RESÍDUOS

Ao fim da execução do projeto, os resíduos produzidos serão submetidos a um tratamento apropriado. Entre as substâncias estão o clorofórmio e o hexano, que serão recuperados por meio de destilação com o evaporador rotativo disponível no IFSC câmpus Jaraguá do Sul - Centro.

O iodo utilizado na revelação será recristalizado por sublimação e os ésteres serão descartados em locais apropriados. Quanto aos resíduos de látex e da batata, assim como os do biofilme serão descartados no lixo orgânico, pois são materiais biodegradáveis.

## 10 CRONOGRAMA

	Janeiro	Fevereiro	Março	Abril	Maió	Junho
Revisão bibliográfica	X	X	X			
Extração do látex		X	X	X	X	

Preparação do filme de amido		X	X	X	X	
Imobilização do látex		X	X	X	X	
Realização das sínteses		X	X	X	X	
Caracterização dos produtos obtidos		X	X	X	X	X
Comparação dos dados obtidos				X	X	X
Elaboração do artigo					X	X
Entrega do relatório						X
Apresentação final						X

## REFERÊNCIAS

ALVES, Manuella Miranda. **IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM BUCHA VEGETAL: PREPARAÇÃO DE ÉSTERES DE AROMA**. 2015. 41 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2015.

AYRES, Bianca Maíra Teixeira. **ESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA PARA OBTENÇÃO DE ACRILATOS SIMPLES E MÚLTIPLOS DE MALTODEXTRINA**. 2014. 198 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2014.

CARVALHO, Patrícia de O. et al. **POTENCIAL DE BIOCATÁLISE ENANTIOSELETIVA DE LIPASES MICROBIANAS**. Química Nova, Campinas, Sp, v. 28, n. 4, p.614-621, 13 abr. 2005.

COLLA, Luciane Maria; REINEHR, Christian Oliveira; COSTA, Jorge Alberto Vieira. **APLICAÇÕES E PRODUÇÃO DE LIPASES MICROBIANAS**. Ciatic, Passo Fundo, v. 4, n. 2, p.01-14, 2012.

CORTEZ, Daniela Vieira. *et al.* **Potencial catalítico de lipases ligadas ao micélio de fungos filamentosos em processos de biotransformação**. Química Nova, Poços de Caldas – Mg., v. 40, n. 1, p.85-96, 30 ago. 2016. Sociedade Brasileira de Química (SBQ).

DIAS, F.R.F. *et al.* **UMA VISÃO GERAL DOS DIFERENTES TIPOS DE CATÁLISE EM SÍNTESE ORGÂNICA**. 2012. Disponível em: <http://rvq.sbq.org.br/imagebank/pdf/v4n6a15.pdf>. Acesso em: 10 out. 2017.

GIESE, Ellen Cristine. **BIOCATALISADORES IMOBILIZADOS: PROSPECÇÃO DE INOVAÇÕES TECNOLÓGICAS NA ÚLTIMA DÉCADA**. 2015. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Ellen\\_Giese/publication/281558388\\_IMMOBILIZED\\_BIOCATALYSTS\\_PROSPECT\\_OF\\_TECHNOLOGICAL\\_INNOVATIONS\\_IN\\_THE\\_LAST\\_DECADE/links/55edda7908ae199d47bec272/IMMOBILIZED-BIOCATALYSTS-PROSPECT-OF-TECHNOLOGICAL-INNOVATIONS-IN-THE-LAST-DECADE.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ellen_Giese/publication/281558388_IMMOBILIZED_BIOCATALYSTS_PROSPECT_OF_TECHNOLOGICAL_INNOVATIONS_IN_THE_LAST_DECADE/links/55edda7908ae199d47bec272/IMMOBILIZED-BIOCATALYSTS-PROSPECT-OF-TECHNOLOGICAL-INNOVATIONS-IN-THE-LAST-DECADE.pdf). Acesso em: 17 out. 2017.

GOMES, Anida Maria Moraes. **Preparação, caracterização e avaliação da biodegradabilidade de blendas de amido/quitosana/PVA**. 2008. 175 f. Tese (Doutorado em Química Inorgânica) - Centro de Ciências, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2008.

GONÇALVES, Caroline da C.s.; MARSAIOLI, Anita J.. **FATOS E TENDÊNCIAS DA BIOCATÁLISE**. Química Nova, Campinas, v. 36, n. 10, p.1587-1590, 16 out. 2013.

GRIS, Daiane. **Preparação de ésteres de aroma catalisada por lipases imobilizadas em filmes de amido/PVA**. 2010. 37 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2010.

HAACK, Micheli de Souza. **ANÁLISE DE MATERIAIS POR ESPECTROSCOPIA NO INFRAVERMELHO DENTRO DO SISTEMA DE GESTÃO DE QUALIDADE CONFORME ABNT NBR ISO/IEC 17025**. 2010. Disponível em:

<<http://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/28602/000771298.pdf>>. Acesso em: 11 nov. 2017.

HENRIQUE, Celina Maria; CEREDA, Marney Pascoli; SARMENTO, Silene Bruder Silveira.

**Características físicas de filmes biodegradáveis produzidos a partir de amidos modificados de mandioca**. 2008. Disponível em: <<http://www.redalyc.org/html/3959/395940086033/>>. Acesso em: 20 out. 2017.

JUNIOR, Douglas Kviatkowsky. *et al.* **EXTRAÇÃO DE QUITINA DA CASCA DE CRUSTÁCEOS PARA PRODUÇÃO DE BIOFILMES A BASE DE QUITOSANA E ÓLEO ESSENCIAL DE ALECRIM (Rosmarinus Officinalis)**. 2016. Disponível em:

[https://drive.google.com/file/d/0B\\_0OFEKt0VuAUkstajRmSDVnc2dfMjdmYldlb2NJaTRsTXVB/view](https://drive.google.com/file/d/0B_0OFEKt0VuAUkstajRmSDVnc2dfMjdmYldlb2NJaTRsTXVB/view).

Acesso em: 15 nov. 2017.

LEHNINGER, A. L. *et al.* **Lehninger principles of biochemistry**. 6th. New York: W.H. Freeman, 2013. ISBN 9781429234146 (North American ed.) 1429234148 (North American ed.).

LEDRA, Carlos Geovanni Alves. **PREPARAÇÃO DE ÉSTERES DE AROMA CATALISADA POR LIPASES IMOBILIZADAS EM FILME DE AMIDO DE BATATA**. 2009, 38 f. Relatório - Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

MCMURRY, J. **QUÍMICA ORGÂNICA**. 6ª Ed. São Paulo: Cengage Learning, 2009. pp 132-154.

MEDEIROS, Camila Rigoni. **OTIMIZAÇÃO DA SÍNTESE DE ÉSTERES USADOS NA INDÚSTRIA DE SABORES E AROMAS**. 2008, 38 f. TCC (Graduação) - Curso de Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008

MOREIRA, Marcelo Alves. **PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE PERÓXI-ÁCIDOS E SUA UTILIZAÇÃO NA EPOXIDAÇÃO DE TERPENOS**. 2008, 150 f. Tese (Doutorado em Química) - Centro de Ciências, de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2008.

MOTTA, Valter T.. **Introdução à bioquímica**. Disponível em:

<<http://professor.pucgoias.edu.br/SiteDocente/admin/arquivosUpload/16673/material/bioquimica-basica.pdf>>. Acesso em: 05 nov. 2017.

NASCIMENTO, Maria da Graça. *et al.* **APLICAÇÕES SINTÉTICAS DE LIPASES IMOBILIZADAS EM POLÍMEROS**. 2004, 8 f. Química Nova, vol. 27, no. 4.

NEVES, Jaqueline Moraes et al. **Produção de bioplástico a partir da casca da batata (Solanum tuberosum): o desenvolvimento de um protótipo interdisciplinar**. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EDUCAÇÃO EM ENGENHARIA, 11., 2013, Gramado. Cobenge. Salvador, 2013. Disponível em: <[http://www.fadep.br/engenharia-eletrica/congresso/pdf/116912\\_1.pdf](http://www.fadep.br/engenharia-eletrica/congresso/pdf/116912_1.pdf)>. Acesso em: 15 out. 2017.

NETO, Pedro Ramos da Costa. **OBTENÇÃO DE ÉSTERES ALQUÍLICOS (Biodiesel) POR VIA ENZIMÁTICA A PARTIR DO ÓLEO DE SOJA**. 2002, 133 f. Curso de Pós-Graduação em Química -

Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2002.

NOGUEIRA, Jesus Charles do Amaral. **MELHORIA DAS PROPRIEDADES DO GESSO COM ADITIVO SINTÉTICO E COM LÁTEX DE *EUPHORBIA TIRUCALLI* E DE *HEVEA BRASILIENSIS* PARA USO NA CONSTRUÇÃO DE HABITAÇÕES DE INTERESSE SOCIAL**. 2012. Programa de Pós-Graduação em engenharia urbana e ambiental - mestrado. Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa. Disponível em: <http://tede.biblioteca.ufpb.br/bitstream/tede/5462/1/arquivototal.pdf> Acesso em: 17 out. 2017.

OLIVEIRA, C. A. *et al.* **SÍNTESE DE ÉSTERES DE AROMAS DE FRUTAS: UM EXPERIMENTO PARA CURSOS DE GRADUAÇÃO DENTRO DE UM DOS PRINCÍPIOS DA QUÍMICA VERDE**. 2014. Disponível em: <http://rvq.s bq.org.br/imagebank/pdf/v6n1a12.pdf>. Acesso em: 07 out. 2017.

OLIVEIRA, Luciana Gonzaga de; MANTOVANI, Simone Moraes. **Transformações biológicas: contribuições e perspectiva**. 2009. Departamento de Química Orgânica, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.

PAQUES, Fernanda Wiermann; MACEDO, Gabriela Alves. **LIPASES DE LÁTEX VEGETAIS: Propriedades e aplicações industriais**. 2004. Disponível em: [http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol29No1\\_93\\_17-RV04329.pdf](http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol29No1_93_17-RV04329.pdf). Acesso em: 05 nov. 2017.

PIMENTEL, Aline. **Síntese de ésteres catalisada por lipases imobilizadas em filmes de PVA**. 2006. Trabalho de Conclusão de Curso - Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química da Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

ROCHA, Alana Gabriela. *et al.* **ESTERIFICAÇÃO VIA ENZIMÁTICA A PARTIR DE LIPASES PRESENTES NO LÁTEX PRESENTE NA PLANTA *EUPHORBIA TIRUCALLI***. 2017. Disponível em: [https://drive.google.com/file/d/0B\\_0OFEKt0VuAbUhMaXVmYmxGbjlXaG13MVkxTGJfYVV2M08w/view](https://drive.google.com/file/d/0B_0OFEKt0VuAbUhMaXVmYmxGbjlXaG13MVkxTGJfYVV2M08w/view). Acesso em: 11 out. 2017.

SILVA, Everton Menezes da. **PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FILMES BIODEGRADÁVEIS DE AMIDO DE PINHÃO**. 2011. Disponível em: <https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/38562/000823833.pdf?sequence=1>. Acesso em: 05 nov. 2017.

SILVA, Julyetty Crystyne da. **REAÇÕES DE ACILAÇÃO ENANTIOSSELETIVA DE AMINAS E ÁLCOOL ALIFÁTICOS CATALISADAS POR LIPASES**. 2015. Programa de Pós-Graduação em Química. Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

SILVA, Rogério Almiro Oliveira *et al.* **PROSPECÇÃO TECNOLÓGICA DE FITOTERÁPICO (*Euphorbia Tirucalli* L.) UTILIZADO NO TRATAMENTO DE NEOPLASIAS E OUTRAS DOENÇAS**. 2013. Universidade Federal do Piauí, Teresina. Disponível em: <https://www.rebap.ufba.br/index.php/nit/article/view/11394/8227> Acesso em: 17 out. 2017

SOUZA, Jadison Fabricio de. **DESENVOLVIMENTO DE MEMBRANA DE POLISSULFONA PARA A IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE**. 2006. Programa de Pós-Graduação em Materiais. Pró-Reitoria de Pós-Graduação e Pesquisa. Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul.

TRINDADE, Maria José de Sousa. *et al.* **ESPÉCIES ÚTEIS DA FAMÍLIA EUPHORBICEAE NO BRASIL**. 2014. Laboratório de Biotecnologia, Embrapa Amazônia Oriental. Belém.

TSUKAMOTO, Junko. **Esterificação enzimática direta de carboidratos com ácido acrílico em meio orgânico**. 2006. 124 f. Tese (Doutorado) - Curso de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006. Disponível em: <http://repositorio.unicamp.br/handle/REPOSIP/266757>. Acesso em: 04 nov. 2017.

VARRICHIO, Márcia C.B.N. *et al.* **EUPHORBIA TIRUCALLI: ANÁLISE QUALITATIVA DO DESENVOLVIMENTO VEGETAL DURANTE O CULTIVO IN VITRO**. 2008. Disponível em: [https://www.researchgate.net/profile/Simone\\_Silva12/publication/271514000\\_EUPHORBIA\\_TIRUCAL](https://www.researchgate.net/profile/Simone_Silva12/publication/271514000_EUPHORBIA_TIRUCAL)

LI\_ANALISE\_QUALITATIVA\_DO\_DESENVOLVIMENTO\_VEGETAL\_DURANTE\_O\_CULTIVO\_IN\_VITRO/links/54ca45550cf2517b755ddb76.pdf. Acesso em: 10 out. 2017.

VECCHIA, Roberto Dalla. **APLICAÇÕES SINTÉTICAS DE LIPASES IMOBILIZADAS EM POLÍMEROS**. 2003. Disponível em: <[http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol27No4\\_623\\_16-RV03143.pdf](http://quimicanova.s bq.org.br/imagebank/pdf/Vol27No4_623_16-RV03143.pdf)>. Acesso em: 08 out. 2017.

VESCOVI, Vinicius. **EXTRAÇÃO, PURIFICAÇÃO E IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES VEGETAIS DESTINADAS À SÍNTESE DE BIODIESEL E ÉSTERES**. 2012. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal de São Carlos, São Carlos.

WACZUK, Emily Pansera. **AVALIAÇÃO TOXICOLÓGICA DO EXTRATO AQUOSO DOS RAMOS DE *E. tirucalli* L. IN VITRO**. 76 f. 2014. Programa de pós-graduação em bioquímica. Universidade Federal do Pampa, Uruguiana. Dissertação de Mestrado.