

PREPARAÇÃO DE SUPORTE PARA IMOBILIZAÇÃO DE ENZIMAS

Isadora Gazoni ¹, Alexandra de Carvalho ², Pâmela Cristina Lima ³, Elisandra Rigo ⁴

¹ Acadêmico (a) do Curso de Engenharia de Alimentos – CEO – bolsista PIBIC/CNPq

² Acadêmico (a) do Curso de Engenharia Química – CEO

³ Mestranda do Curso de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos – CEO

⁴ Orientador, Departamento de Engenharia de Alimentos e Engenharia Química – CEO –
elisandra.rigo@udesc.br

Palavras-chave: Quitosana. Biodegradável. Atóxico.

A quitosana tem sido amplamente utilizada como suporte para imobilização de enzimas devido suas características de não toxicidade, ser inerte, biodegradável, barato e versátil adotando diversas formas e tamanhos podendo assim ter uso em diversos bioprocessos. Os exemplos de imobilização mais utilizados são por ligação iônica e oclusão que consistem respectivamente em atração de íons com cargas opostas e aprisionamento. A ligação iônica é mais forte entre os tipos de ligação e geralmente são utilizados agentes reticuladores que tem capacidade de gerar *crosslinking* entre proteínas e polímeros como a quitosana. O reticulador mais utilizado atualmente é o glutaraldeído, mas estudos recentes trazem alternativas menos tóxicas como a genipina. Já a metodologia de oclusão envolve a polimerização *in situ* da matriz porosa em torno dos biocatalisadores a serem imobilizados, de forma que permitam a difusão dos substratos e produtos bloqueando apenas a proteína. O peso molecular e a especificidade de cada enzima deve ser considerado para a seleção do suporte ideal para imobilização. Neste sentido, o objetivo do trabalho foi preparar um suporte a base de quitosana com propriedades específicas para a imobilização da B-galactosidase e Glicose isomerase. Foram avaliados três protocolos de preparo do suporte de quitosana: (1) quitosana em partículas, (2) quitosana em esfera 4mm, (3) quitosana em esfera 2mm. Os ensaios consistiram: (1) 5,0g de quitosana diluída em 200,0mL de solução de ácido acético 5%, em agitação moderada por 1:30 h, após adicionou-se lentamente em 2L de solução de hidróxido de sódio 0,1M, permanecendo durante 4 horas em agitação branda e 24 horas em repouso para decantar. Sucessivas lavagens foram realizadas com água destilada para a neutralização do suporte, e secagem em filtro com vácuo para estocagem em geladeira. (2) 2% de quitosana dissolvida em ácido acético 0,35M para gotejamento com o auxílio de uma pipeta de Pasteur em solução de coagulação (hidróxido de sódio 1M e etanol 26% v/v) sob agitação lenta. As esferas obtidas foram lavadas com água destilada até a neutralidade e estocadas em geladeira. (3) 0,2g de quitosana solubilizada em 10,0 mL de solução de ácido acético 0,35M submetida a sonificação por 1 hora e após gotejamento com uma seringa e agulha em solução de coagulação (hidróxido de sódio 1M e etanol 26% v/v) sob agitação lenta. As esferas permaneceram em repouso por 3 horas em geladeira, seguida de lavagem com água destilada até sua neutralidade e

então secagem em estufa a vácuo. Os resultados obtidos neste estudo, podem ser observados na Figura 1, onde cada suporte apresenta características visivelmente distintas para a imobilização das enzimas por ligação iônica e oclusão.

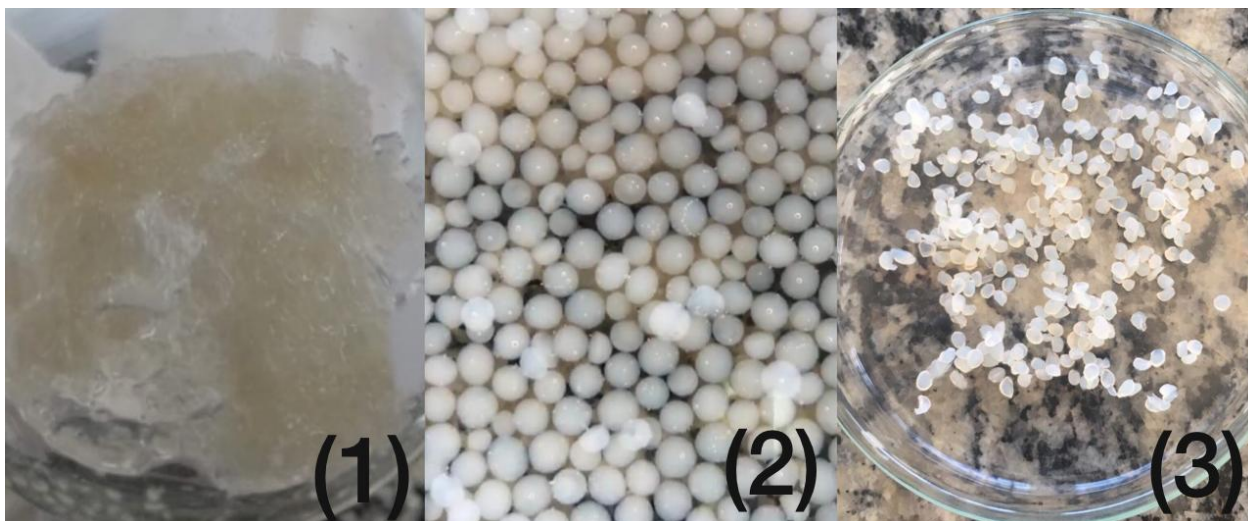


Figura 1. Suportes à base de quitosana neutros e secos para aplicação na imobilização de enzimas.

O experimento (3) foi selecionado como o mais adequado no caso da imobilização por ligação iônica, visto que sua área superficial individual diminuiu, mas aumentou a área total devido a quantidade de esfera para contato com agentes ativadores e enzimas. Além disso buscando realizar ciclos sucessivos nos imobilizados, a esfera tem vantagem em relação as partículas (1), pois podem ser facilmente separadas das reações e com a possibilidade de serem utilizadas para imobilizações por oclusão.

Agradecimentos: UDESC, FAPESC e ICL pelos recursos didáticos e financeiros.

SHELDON, Roger A.; PELTB, Sander van. Enzyme immobilisation in biocatalysis: why, what and how. **Royal Society of Chemistry (RSC) Publishing**, Chemical Society Reviews, p. 6223--6235, 24 fev. 2013.

FLORES, Elí Emanuel Esparza *et al.* Influence of reaction parameters in the polymerization between genipin and chitosan for enzyme immobilization. **Elsevier**, Elsevier Ltd, p. 1359-5113, 1 jun. 2019.