

IMOBILIZAÇÃO DE LIPASE EM ALGINATO DE SÓDIO

Bárbara Martineli Bonine¹, Gustavo Orlando Bonilla-Rodriguez², Patrícia Peres Polizelli³, Marcos Alexandre Polizelli³.

1. Graduação em Ciências Biológicas;

2. Prof. Assistente Doutor, DQCA, IBILCE/UNESP, S. J. Rio Preto;

3. Doutorando (a), Biofísica Molecular.

Nº 2.08.00.00-2 Bioquímica

As enzimas, que em sua maioria são proteínas, são responsáveis pela catálise biológica. Elas são altamente específicas e seu poder catalítico é muito superior aos catalisadores químicos.

Dentre as enzimas que possuem aplicação industrial, bem como acadêmico, estão as lipases. As lipases catalisam tanto a hidrólise quanto a síntese de ligações ésteres em triacilgliceróis. Essas enzimas encontram promissoras aplicações em processos de síntese orgânica, formulação de detergentes, síntese de biosurfactantes, tratamentos de resíduos e em processos das indústrias: óleoquímica, de laticínios, agro-química, de papel, de cosméticos e farmacêutica.

Vários são os fatores que alteram a conformação de uma enzima, podendo afetar sua atividade. Diante disso, várias técnicas de imobilização estão sendo desenvolvidas afim de proporcionar uma maior resistência quanto a variação de pH, temperatura, além de uma maior estabilidade, recuperação e reutilização.

A técnica de imobilização utilizada neste projeto foi a de microencapsulação. Esta técnica tem como uma das principais vantagens a não interação da enzima com o polímero responsável pela encapsulação, evitando, assim, sua desnaturação. O polímero utilizado foi o alginato de sódio, que tem a propriedade de formar esferas, em temperatura ambiente, na presença de íons bivalentes. O alginato é um polissacarídeo composto por dois monômeros diferentes (ácido gulurônico e ácido manurônico) que se alternam na constituição do polímero.

Para a gelificação do polímero foi utilizado CaCl_2 . Para a formação das esferas de alginato foram testadas cinco diferentes porcentagens (1,5, 2, 2,5 e 3%) do polímero em uma concentração de cloreto de cálcio de 0,025M. Posteriormente foram testadas quatro concentrações diferentes de CaCl_2 (0,025, 0,05, 0,1 e 0,2M) e 2,5% de alginato. As soluções de alginato, CaCl_2 e enzima foram preparadas em tampão Tris-HCl, pH 7,2, 0,05M. Após a mistura de polímero e solução enzimática as esferas são formadas por pipetagem das gotas em solução de CaCl_2 . Depois de decantadas as esferas, estas foram lavadas duas vezes com o mesmo tampão, para a remoção das enzimas não imobilizadas. A determinação da atividade enzimática foi realizada por ensaio colorimétrico, usando p-nitrofenil palmitato como substrato, dissolvido em emulsão de 2% de Triton X-100 + 0,05M de tampão Tris-HCl e a variação da absorbância em 410nm será avaliada em espectrofotômetro de feixe duplo Cary Scan 100 (Varian).

A imobilização foi alcançada, obtendo-se esferas do polímero de aproximadamente 3mm cada. A reutilização foi testada para até cinco ensaios consecutivos, havendo queda da atividade até ao redor de 20% da original. A melhor condição foi 2,5% do polímero, como evidenciado na figura 1, onde constam as reutilizações das porcentagens com melhor atividade. A melhor condição de cloreto de cálcio foi de 0,025M.

Os dados coletados destacaram as vantagens e superações da enzima imobilizada com relação à enzima livre, assim propiciando o aproveitamento desta enzima imobilizada em diversas aplicações, e principalmente não gerando resíduos tóxicos.

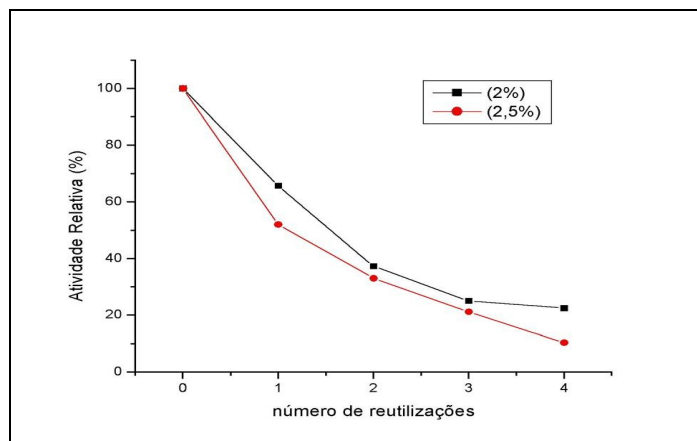


Figura 1: Gráfico da Atividade Relativa versus o número de reutilizações para a enzima imobilizada.

Referências Bibliográficas:

FABER, K.; Biotransformations in Organic Chemistry, Springer-Verlag: Berlin, 1997.

HERTZBERG, S.; KVITTINGEN, L.; ANTHOSEN, T.; Enzyme Microb. Technol. 14, 42, 1992.

JAEGER, K. E.; EGGERT, T. Lipases for biotechnology. Curr. Opin. Biotechnol., 13, 390-397, 2002.

VILLENEUVE, P.; MUDERHWA, J. M.; GRAILLE, J.; HOSS, M. J.; J. Mol. Catal. B: Enzym., 9, 113, 2000.

Auxílio Financeiro: Agências de Fomento: FAPESP 05/02418-6 e CNPq (GOBR)