

AVALIAÇÃO DA IMOBILIZAÇÃO DAS ENZIMAS LIPASE, INULINASE E PEROXIDASE NÃO COMERCIAIS EM DIFERENTES SUPORTES INORGÂNICOS

KARINA PAULA PRECZESKI^{1,2*}, JÉSSICA MULINARI^{1,2}, SIMONE GOLUNSKI^{1,2}, HELEN TREICHEL^{1,2}

¹Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim; ²Grupo de Estudos em Agroenergia e Linha de Pesquisas em Bioprocessos e Aplicação em Bioenergias da Universidade Federal da Fronteira Sul

*Autor para correspondência: Karina Paula Preczeski (karinapreczeski@gmail.com)

1 Introdução

O aumento da preocupação com questões ambientais, qualidade do produto e redução de custos, alavancou o interesse por enzimas em diferentes aplicações. A tecnologia enzimática é uma alternativa para substituir processos químicos por biocatalisados, por possuir menor impacto ambiental e apresentar ferramentas promissoras para síntese de compostos de alto valor agregado (HASAN et al., 2006).

O uso de enzimas não comerciais como lipases, inulinases e peroxidases, obtidas a partir de matérias-primas renováveis e de baixo custo, pode também ser relevante para o desenvolvimento de processos utilizando enzimas como catalisadores, que sejam economicamente viáveis (SALIHU et al., 2012). Com a finalidade de aproveitar o potencial catalítico das enzimas, e reunir as vantagens dessas proteínas sobre os catalisadores químicos, tem-se estudado formas de torná-las insolúveis ao meio reacional.

A imobilização apresenta-se como uma alternativa atraente. Ao se obter uma enzima imobilizada ativa e estável, e com boa especificidade ao substrato, a maioria das desvantagens dos biocatalisadores é eliminada e as enzimas podem ser utilizadas nos processos industriais de forma similar aos catalisadores químicos (ZANIN e MORAES, 2004).

2 Objetivo

Avaliar processos de imobilização das enzimas lipase, inulinase e peroxidase não comerciais em suportes inorgânicos com posterior aplicação em produtos de interesse científico e tecnológico.

3 Metodologia

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Microbiologia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *campus* Erechim. A enzima lipase foi produzida pelo fungo *Aspergillus niger* por fermentação em estado sólido utilizando torta de canola como substrato (TREICHEL et al., 2016). A produção da enzima inulinase se deu por fermentação em estado sólido utilizando como substrato o bagaço de cana contendo a levedura *Kluyveromyces marxianus* NRRL Y-7571 (MAZUTTI et al., 2006). Já a enzima peroxidase foi extraída de farelo de arroz e farelo de soja, passando por processos de purificação com precipitação em acetona e eluída por coluna cromatográfica de filtração em gel (BOER et al., 2006). Após a obtenção das enzimas, foram realizados testes preliminares de imobilização. Através destes, foi possível montar um delineamento composto central rotacional 2^2 (DCCR), onde as variáveis estudadas foram alginato de sódio (2 – 8%), carvão ativado (3 – 7%) e glutaraldeído (5 – 15%). A determinação da atividade enzimática para a enzima lipase se deu através da quantificação de ácidos graxos livres liberados conforme Treichel *et al.* (2016). Já a determinação da atividade enzimática da enzima inulinase se deu através da determinação de açúcares redutores totais por ácido 3,5-dinitrosalicílico (MILLER, 1959). A enzima peroxidase foi quantificada a partir do método descrito por Devaiah e Shetty (2009).

4 Resultados e Discussão

Através do emprego da matriz de planejamento experimental para a enzima lipase chegou-se ao maior valor de atividade enzimática quando esta foi imobilizada com 2% (m/v) de alginato de sódio, 15% (v/v) de glutaraldeído e 3% (m/v) de carvão ativado, obtendo um valor de 30,46 U/g.

Para a enzima inulinase, o maior valor da atividade enzimática foi encontrado quando esta foi imobilizada nas menores concentrações de alginato de sódio (2% m/m), glutaraldeído (5% v/v) e carvão ativado (3% m/m), sendo este valor de 2063,52 U/mg.

Assim como para a imobilização das outras duas enzimas, para a enzima peroxidase também fez-se o uso de planejamento experimental, sendo que através da análise dos valores obtidos observou-se que esta não apresentou atividade quando imobilizada em alginato de sódio e carvão ativado frente a enzima bruta.

Os resultados encontrados neste trabalho podem ser considerados satisfatórios quando comparados com a literatura, demonstrando assim a eficiência do processo.

5 Conclusão

Devido à frequentes preocupações com o meio ambiente e custo de projetos, processos químicos convencionais têm sido cada vez menos utilizados e processos biotecnológicos têm sido rapidamente valorizados e indicados como seus substitutos. O sucesso da aplicação de uma enzima imobilizada com um suporte que apresente um longo tempo de manipulação é um fator de extrema importância. Através dos resultados apresentados neste trabalho, podemos perceber que foi possível obter êxito na imobilização das enzimas lipase e inulinase, sendo que estas podem ser utilizadas com um melhor desempenho em produtos de interesse científico e tecnológico.

Palavras-chave: Lipase; Inulinase; Peroxidase; Suportes; Imobilização.

Fonte de Financiamento

PIBIC - FAPERGS

Referências

- BOER, C. G.; OBICI, L.; SOUZA, C. G. M. DE; PERALTA, R. M. **Purification and some properties of Mn peroxidase from *Lentinula edodes***. Process Biochemistry, v. 41, p. 1203–1207, 2006.
- DEVAIAH, S. P.; SHETTY, H. S. **Purification of an infection-related acidic peroxidase from pearl millet seedlings**. Pesticide Biochemistry and Physiology, v. 94, p. 119-126, 2009.
- HASAN, F.; SHAH, A. A.; HAMEED, A. **Industrial applications of microbial lipases**. Enzyme and Microbial Technology, v. 39, p. 235-251, 2006.
- MAZUTTI, M.; BENDER, J. P.; DI LUCCIO, M.; TREICHEL, H. **Optimization of inulinase production by solid state fermentation using sugar cane bagasse**. Enzyme and Microbial Technology, v. 39, n. 1, p. 56-59, 2006.
- MILLER, G. L., **Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar**. Analytical Chemistry, v. 31, p. 426-428, 1959.
- SALIHU, A., ALAM, M. Z., ABDULKARIM, M. I., SALLEH, H. M. **Lipase production: Na insight in the utilization of renewable agricultural residues**. Resources, Conservation and Recycling, v.58, p.36-44, 2012.
- TREICHEL, H.; SBARDELLOTTO, M.; VENTURIN, B.; DALL AGNOL, A.; MULINARI, J.; GOLUNSKI, S. M.; BALDONI, D. B.; BEVILACQUA, C. B.; JACQUES, R. J.S.; VARGAS, G. D.L.P.; MOSSI, A. J. **Lipase Production from a Newly Isolated *Aspergillus niger* by Solid State Fermentation Using Canola Cake as Substrate**. Current Biotechnology, 2016, 5, 000-000.
- ZANIN, G. M.; MORAES, F. F.; **Enzimas imobilizadas in: Enzimas como agentes biotecnológicos**, Said, S. & Pietro, R. C. L. R., Ed. Legis Summa.