

INTRODUÇÃO

Enzimas tem vasta aplicação na indústria de alimentos, porém sua aplicação é limitada em função do custo de produção elevado, menor estabilidade, quando comparadas com catalisadores químicos, baixa atividade em temperaturas e pH adversos, dificuldade de ser removida do meio reacional. O desenvolvimento de técnicas de imobilização tem sido importante por proporcionar a reutilização das enzimas, facilitar a separação dos produtos e aumentar a estabilidade em solventes orgânicos.

OBJETIVO

O objetivo deste estudo foi estudar a imobilização de tanase de *Paecilomyces variotii* por meio da técnica de adsorção e gelificação iônica em pectina amidada, selecionar o suporte e o método mais adequado para a imobilização desta enzima.

MATERIAIS E MÉTODOS

Inicialmente realizou-se um estudo de imobilização por adsorção utilizando como suportes: Alumina, Amberlite, Accurel e Celite.

Os resultados obtidos na imobilização por adsorção não se mostram eficientes, assim optou-se pelo estudo da imobilização de tanase de *Paecilomyces variotii* por gelificação iônica utilizando pectina. O processo de imobilização foi feito como ilustra a Figura 1.

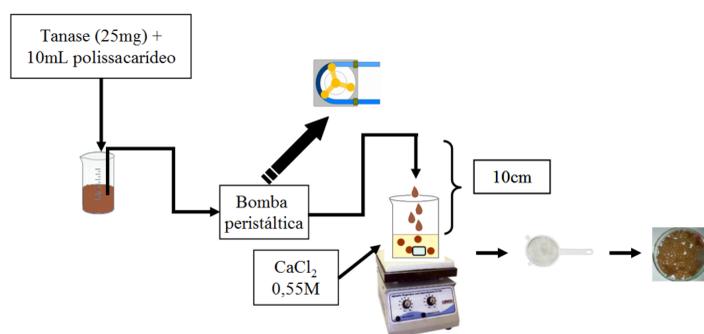


Figura 1. Processo de imobilização da tanase.

A otimização do processo de imobilização foi feito utilizando a ferramenta de planejamento de experimentos, por meio de delineamentos composto central rotacional (DCCR). As variáveis analisadas no primeiro delineamento foram: pectina (3 - 5%), cloreto de cálcio (0,2 – 0,6M) e concentração de tanase (4 – 8 mg/mL de pectina). No segundo delineamento analisou-se: pectina (2 - 4%) e concentração de tanase (2 – 6 mg/mL de pectina). A resposta avaliada foi hidrólise do ácido tânico, a reação foi feita adicionando-se 5 mL de ácido tânico 0,2% em acetato de sódio 0,2M, pH 5,5, empregou-se 30 mg de enzima imobilizada, incubou-se a temperatura de 60°C por 1h. Após a incubação retirou-se uma alíquota de 150 µL e determinou-se a hidrólise de ácido tânico segundo metodologia descrita por Mondal (2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O primeiro DCCR mostrou que a concentração de pectina amidada e de tanase exercem efeito negativo e significativo ($p < 0,05$) quanto a hidrólise de ácido tânico. A concentração de CaCl_2 não exerceu efeito significativo na atividade da tanase imobilizada. Portanto, fixou-se a concentração de CaCl_2 no nível inferior (0,2M).

Com os dados coletados no primeiro planejamento ajustou-se os níveis da concentração de pectina e tanase e realizou-se um segundo DCCR. Os resultados obtidos indicam que a maior hidrólise de ácido tânico ocorreu quando se utilizou as condições quadráticas para a concentração de pectina e linear para concentração de tanase, o mesmo pode ser constatado pela superfície de resposta e curva de contorno (Figura 2).

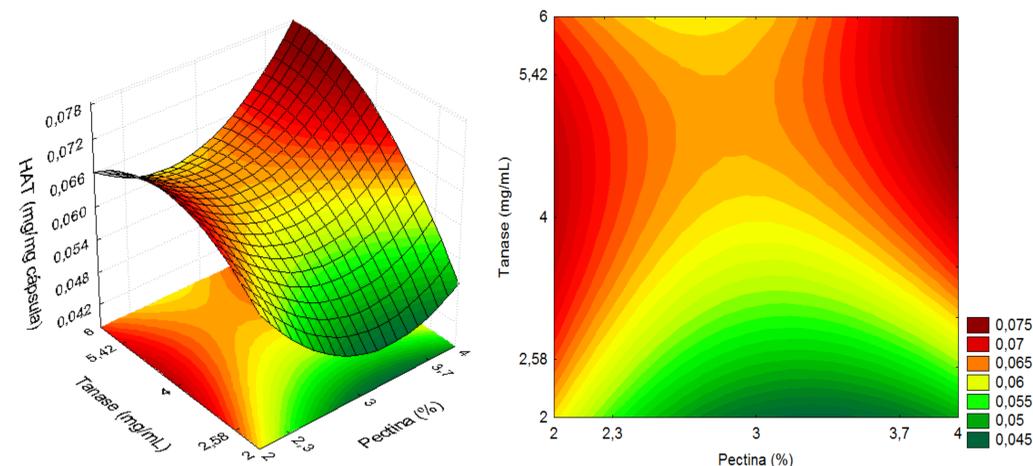


Figura 2. Superfície de Resposta e Curva de Contorno para a resposta hidrólise no estudo de imobilização de tanase.

A partir do DCCR realizado e observando a estrutura da tanase imobilizada em pectina amidada (Figura 3) determinou-se que a melhor condição para a imobilização da tanase ocorre nas seguintes condições: 4% de pectina amidada, 4mg de tanase / mL de pectina e 0,2M de CaCl_2 .

A opção por essas condições também se deu, pois a estrutura da esferas nesta condição apresentaram-se mais firmes e homogêneas que em outros ensaios realizados.



Figura 3. Tanase imobilizada com pectina amidada.

CONCLUSÃO

A técnica de imobilização de tanase por adsorção não mostrou-se adequada a imobilização desta enzima, observou-se que a eficiência de imobilização é muito baixa para os suportes avaliados sendo que apenas a enzima imobilizada em alumina apresentou capacidade de hidrolisar ácido tânico.

Por meio da ferramenta de planejamento de experimento foi possível encontrar as condições mais adequadas para a imobilização de tanase utilizando pectina amidada como suporte. Constatou-se que a gelificação iônica mostrou-se eficiente na hidrólise de ácido tânico.

Determinou-se que as melhores condições de imobilização ocorreu quando utilizaram-se: 4% de pectina amidada tanase na concentração de 4mg/mL de pectina e CaCl_2 na concentração de 0,2M. Nestas condições as esferas se mostram mais firmes e homogêneas garantindo mais uniformidade na reação.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela oportunidade e pela bolsa PIBIC de Iniciação Científica.