

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

Verificar diferentes suportes para a imobilização de tanase visando maior hidrólise de ácido tânico. Após escolhido o suporte, otimizar o processo de imobilização e avaliar a enzima imobilizada quanto ao reuso, caracterizar bioquimicamente a tanase livre e imobilizada.

MATERIAIS E MÉTODOS

Estudou-se a imobilização de tanase de *Paecilomyces variotti* por gelificação iônica nos seguintes suportes: pectina, quitosana, carragena, alginato, alginato de alga marrom e goma gelana. O processo de imobilização foi feito como ilustra a Figura 1.

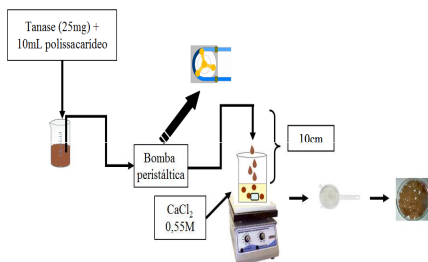


Figura 1. Processo de imobilização da tanase.

Dentre os polissacarídeos avaliados foi selecionado o que resultou em maior hidrólise de ácido tânico para determinar as condições ótimas do processo de imobilização. Avaliou-se por meio de um delineamento composto central rotacional (DCCR) as variáveis alginato de sódio (2 - 6%), cloreto de cálcio (0,1 - 1M) e tempo de cura (1 - 12h)

A tanase imobilizada na melhor condição encontrada a partir do DCCR e a tanase livre foram caracterizadas bioquimicamente, o pH ótimo e de estabilidade foram estudados entre 3,5 e 9,0, a temperatura ótima e de estabilidade da enzima foram estudadas entre 20 e 80°C em pH de 5,5. Avaliou-se a atividade da tanase frente a diferentes inibidores e o comportamento da enzima imobilizada quanto ao reuso em bateladas sucessivas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Realizado o estudo da imobilização com diferentes suportes concluiu-se que o alginato foi o que resultou em maior hidrólise de ácido tânico, dessa forma o estudo utilizando DCCR foram feitos utilizando este polissacarídeo. Analisou-se o efeito das variáveis: concentração de alginato (%), concentração de cloreto de cálcio (molaridade) e o tempo de cura (horas). As respostas avaliadas foram hidrólise do ácido tânico, a figura 2 mostra as superfícies de resposta e curvas de contorno.

A partir do DCCR determinou-se como sendo a melhor condição para imobilização da tanase: 5,2% de alginato; 0,28M de CaCl₂ e tempo de cura de 9:50h.

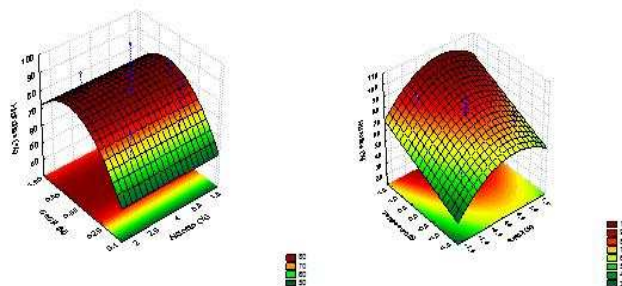


Figura 2. Superfícies de resposta e curvas de contorno para a resposta hidrólise no estudo de imobilização de tanase

Feita a otimização da imobilização, procedeu-se a caracterização bioquímica da tanase, a figura 3 e 4 mostram o comportamento da enzima. A figura 5 mostra a atividade da enzima com após 6 reusos.

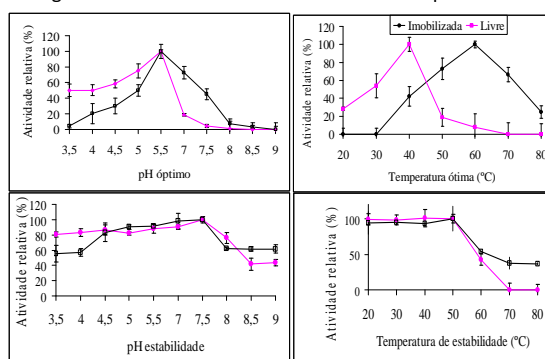


Figura 3. Caracterização Bioquímica da tanase quanto: ao pH ótimo e de estabilidade e de temperatura ótima e de estabilidade.

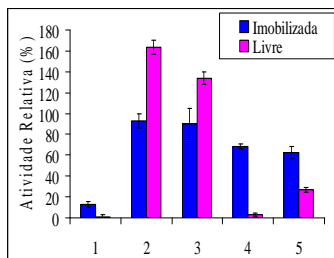


Figura 4. Efeito de diferentes inibidores na atividade da tanase livre e imobilizada.

1 - iodoacetamida; 2 - azidasódica; 3 - cisteína; 4 - EDTA; 5 - 4-cloromercuribenzoato.

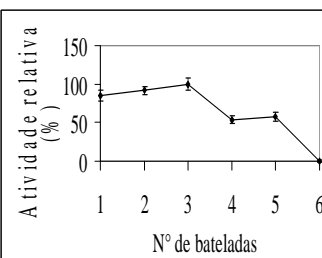


Figura 5. Reuso em batelada da tanase imobilizada e seca.

CONCLUSÃO

Dentre os suportes avaliados para a imobilização da tanase constatou-se que o alginato mostrou-se mais eficiente na hidrólise de ácido tânico. Com a utilização da ferramenta de planejamento de experimentos foi possível otimizar as condições para a imobilização de tanase. A enzima imobilizada tem características semelhantes a da enzima livre, apresentando maior faixa de estabilidade quanto ao pH e mais estabilidade frente a inibidores como o EDTA e 4-cloromercuribenzoato. Também constatou-se a importância da imobilização quanto ao reuso da enzima, mostrando que após a imobilização foi possível reutilizar a enzima por cinco vezes com ela apresentando boa atividade.

AGRADECIMENTOS

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