



EFEITO DA HOMOGENEIZAÇÃO A ALTA PRESSÃO NA ATIVIDADE ENZIMÁTICA DE CELULASE

Ana Paula de T. Scarponi⁽¹⁾; Aline Artigiani Lima Tribst⁽²⁾; Marcelo Cristianini⁽³⁾

(1) Aluna de graduação em Engenharia Agrícola, Bolsista (FAPESP), e-mail: anapscarponi@gmail.com; (2) Co-Orientadora;

(3) Orientador, Docente da Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP.

Palavras-Chave: Homogeneização a Alta Pressão; Atividade Enzimática; Estabilidade térmica e ao pH; Celulase.

INTRODUÇÃO

- o **Homogeneização a Alta Pressão (HAP):** Tecnologia emergente não térmica que visa a conservação de alimentos e alterações desejáveis em macromoléculas através de cisalhamento e cavitação causado pelo processo.
 - o **Enzima:** proteínas globulares que catalisam reações bioquímicas a partir de seu sítio ativo específico, no qual pequenas mudanças podem influenciar a atividade da enzima.
 - o **Celulase:** enzima que converte materiais lignocelulósicos em glicose e tem interesse industrial, apesar do alto custo.
- Recentemente, estudos destacaram a HAP como um método capaz de modificar as estruturas de enzimas, com conseqüente alteração na atividade e estabilidade das mesmas.

OBJETIVOS

Considerando a possibilidade de melhoria do desempenho da celulase, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito do processo de HAP na atividade e na estabilidade da celulase.

MATERIAL E MÉTODOS

Avaliação da Atividade da Celulase

1. Enzima

Enzima comercial (Prozyn Biosolutions®) armazenada sob refrigeração a 5°C.

2. Determinação da Atividade Enzimática

Miller (1959): Reação de açúcares redutores com ácido 3,5 dinitrossalicílico (DNS).

3. Ensaios Preliminares

Adequação da metodologia, testaram-se: concentração da enzima (0,05 a 0,30%); do substrato CMC (0,5 e 1,0%), ordem de adição das soluções de enzima e CMC, condições do banho (com e sem agitação).

4. Temperatura e pH Ótimos

Atividade avaliada em pH 3,0 a 7,0 a 60°C e temperaturas de 30 a 80°C em pH 5,0 por 20 min.

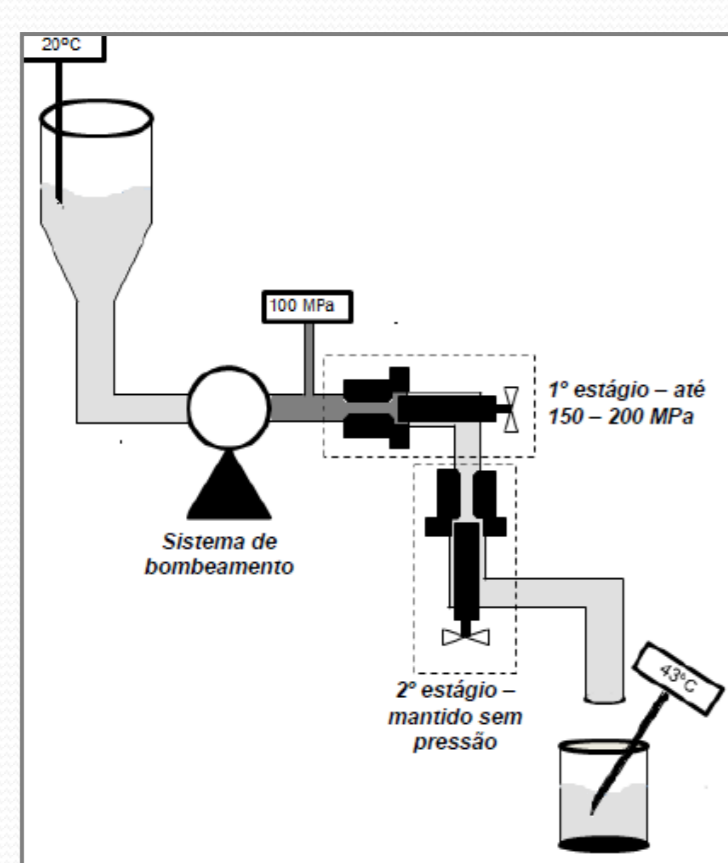
Homogeneização a Alta Pressão

5. Homogeneizador

Panda Plus (GEA-Niro-Soavi, Parma, Italy) até 2000 bar.

6. Pressão Ótima

Pressões avaliadas: 0, 400, 800, 1200 e 1600 bar. Condição: 60°C (ótima), 40 e 80°C (extremas) sob pH ótimo (5,0).



7. Critério para seleção

A pressão ótima: resultou maior aumento da atividade da celulase.

Atividade avaliada na pressão ótima em condições ótimas (60°C e pH 5,0) e extremas (40°C e 80°C; pH 4,0 e 7,0).

8. Avaliação da HAP

9. Análise Resultados

Análise de variância (ANOVA) e Teste de Tukey (diferença ao nível de 5%) - STATISTICA 5.0 software.

Estabilidade Térmica e ao pH

10. Ensaios Preliminares

Caracterizar curva de perda de atividade sem o processo HAP na enzima em diferentes intervalos de tempo. Temperaturas avaliadas: 70, 80 e 90°C. pH avaliados: 3,0 e 4,0.

11. Ensaios Finais

Enzima em pH 5,0 processada a 1600 bar. Estabilidade Térmica: 80°C por 30 min avaliada de 5 em 5 min. Estabilidade ao pH: 3,0 por 30 min avaliado de 5 em 5 min.

Armazenamento da Enzima

Enzima na condição ótima (pH 5,0) processada na pressão ótima definida (1600 bar) estocada por 11 dias sob refrigeração tendo a atividade avaliada a cada 2 dias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação da Atividade da Celulase

Por boa repetibilidade, adotou-se: Celulase 0,20% (boa leitura no espectrofotômetro, entre 0,7 e 0,9), CMC 0,5% (facilidade no manuseio), com adição do substrato à enzima em banho sem agitação.

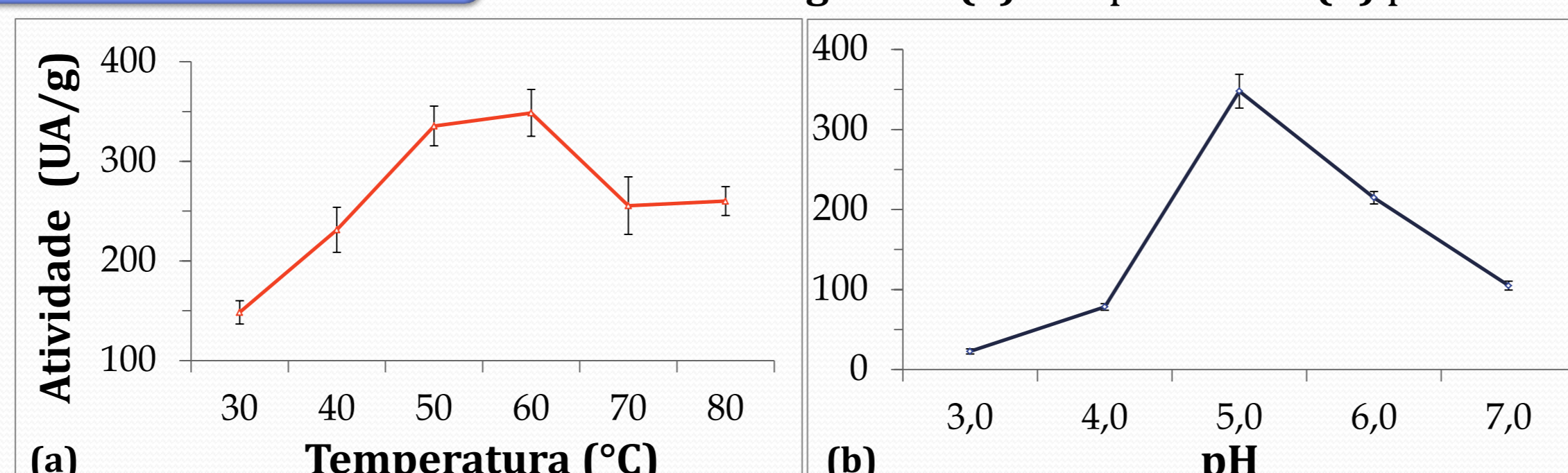


Figura 1: (a) Temperatura e (b) pH ótimos.

Homogeneização a Alta Pressão

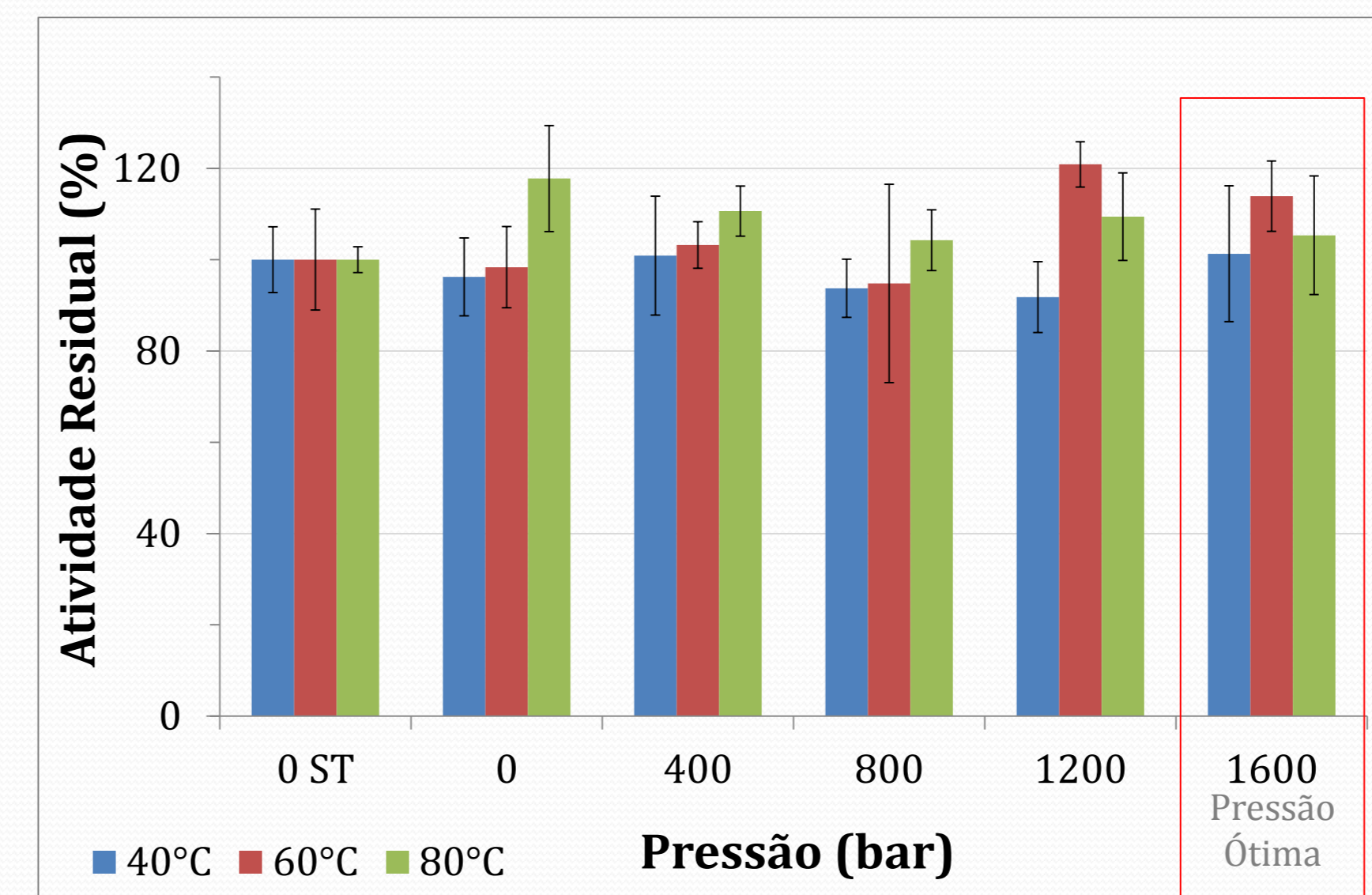


Figura 2: Atividade Residual em função das Pressões avaliadas.

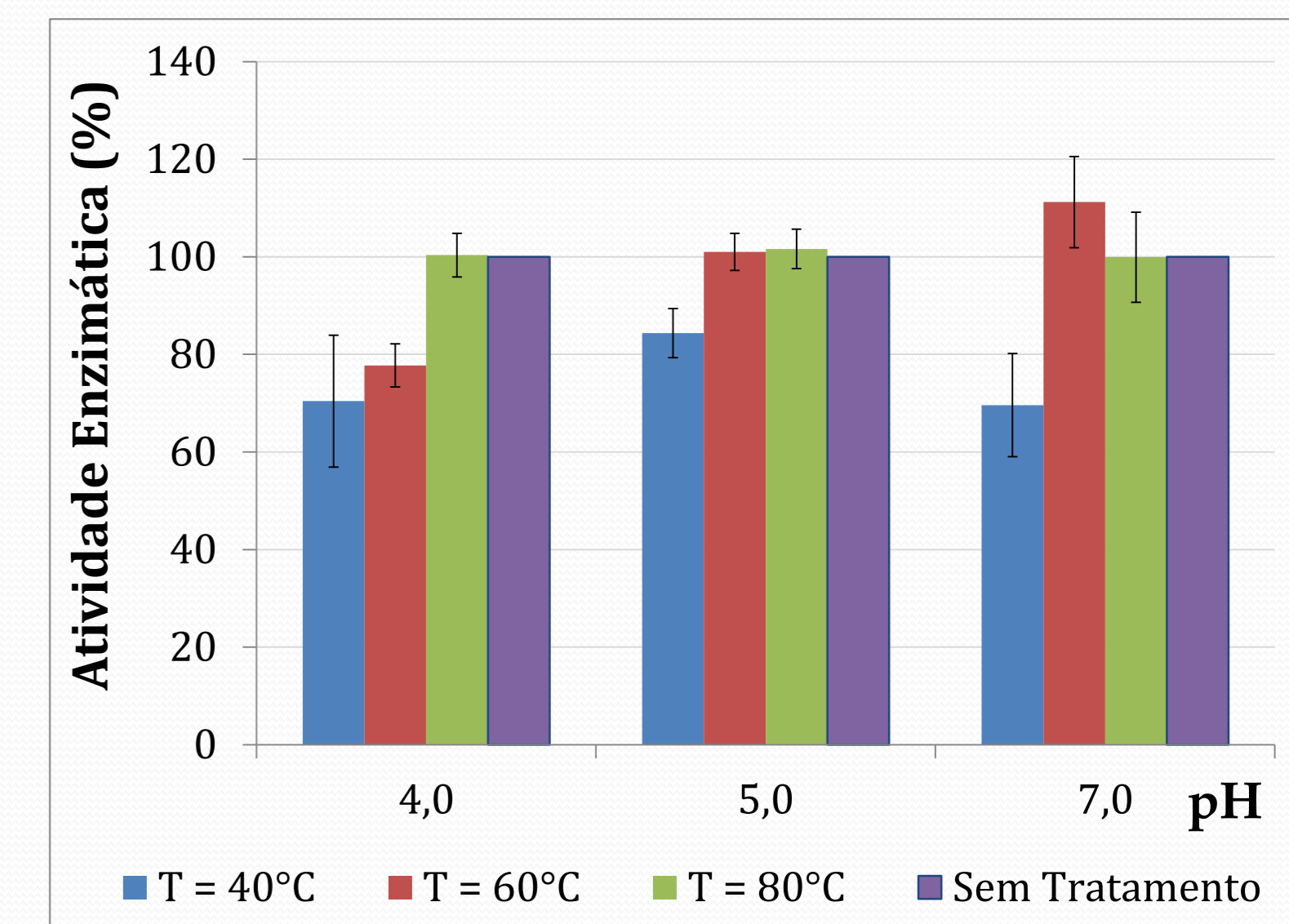


Figura 3: Atividade Residual em condições ótimas e extremas de temperatura e pH, a 1600 bar.

Pressão Ótima: 1600 bar. Aumentou atividade relativa da celulase a 60 e 80°C. De forma geral, a HAP influenciou atividade enzimática: atividade reduziu após o processo (40 e 60°C), aumentou (60°C) ou permaneceu a mesma (60 e 80°C).

Estabilidade Térmica e ao pH

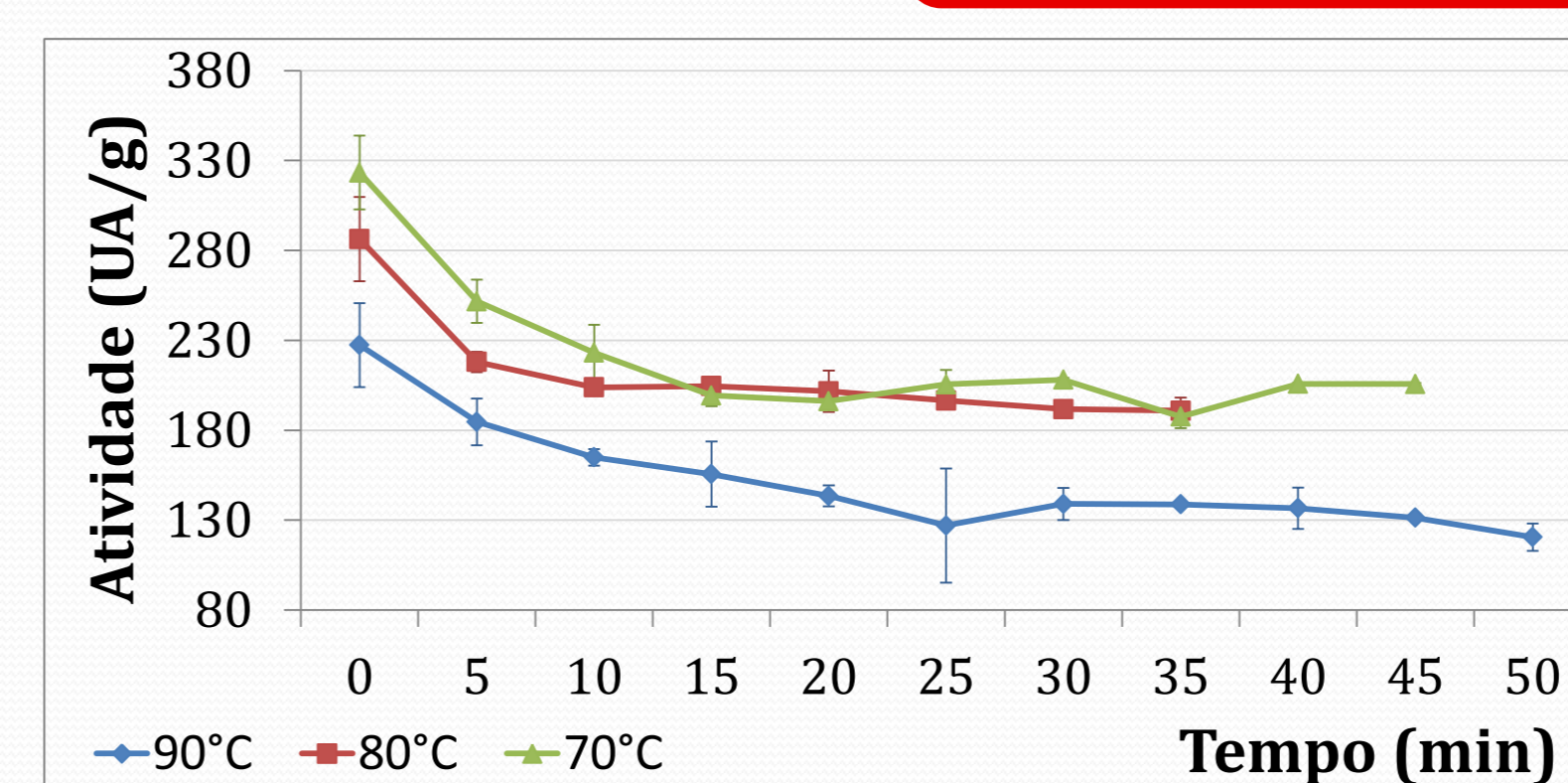


Figura 4: Ensaios preliminares a 70, 80 e 90°C.

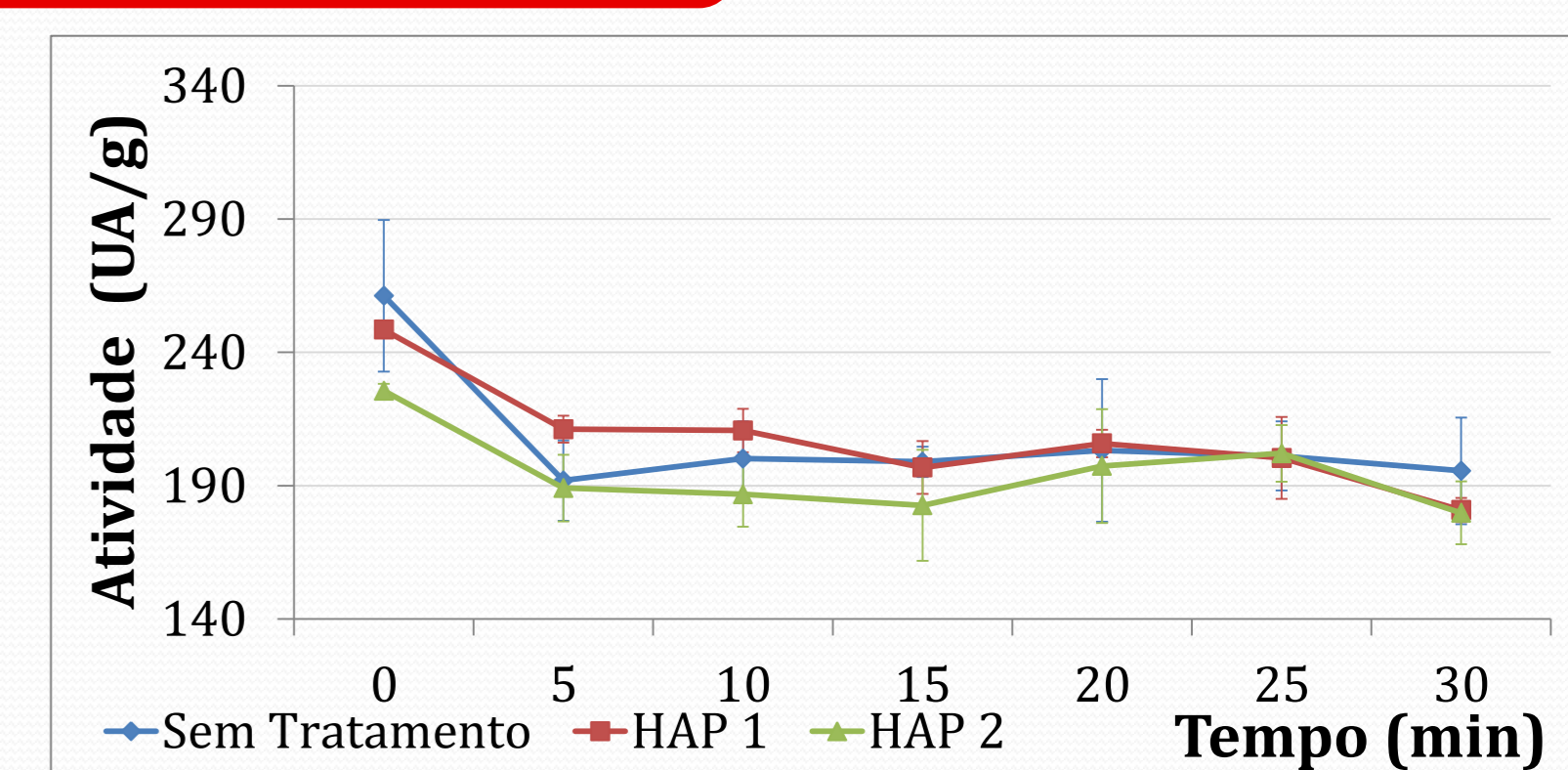


Figura 5: Ensaio Final - Estabilidade térmica a 80°C.

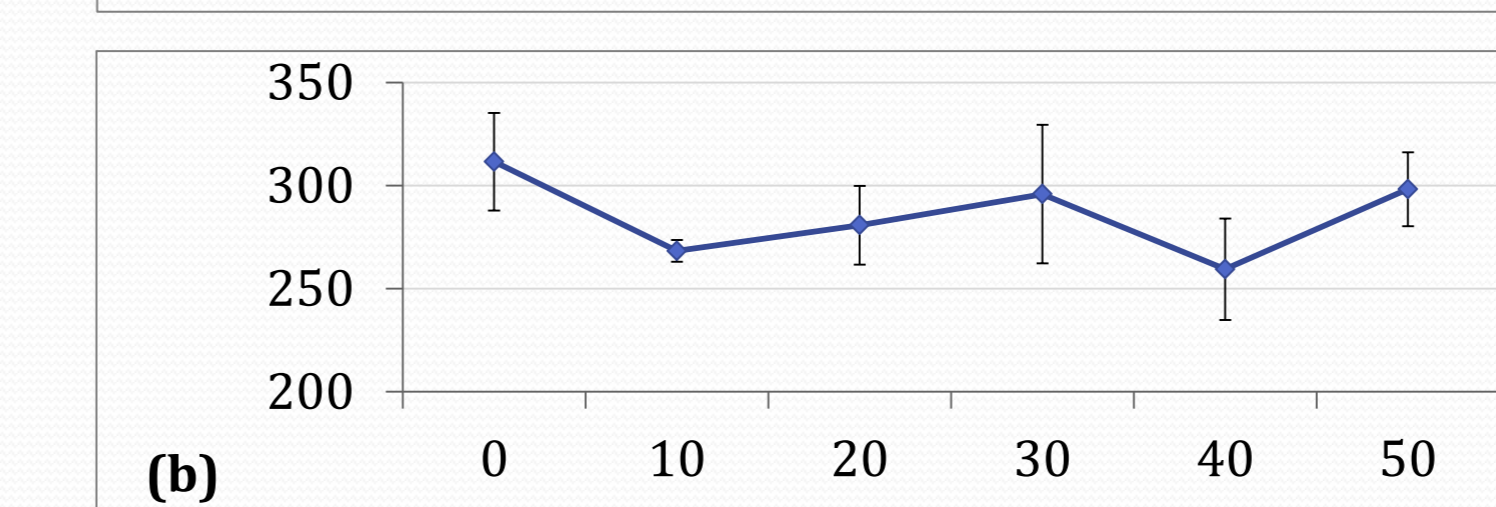
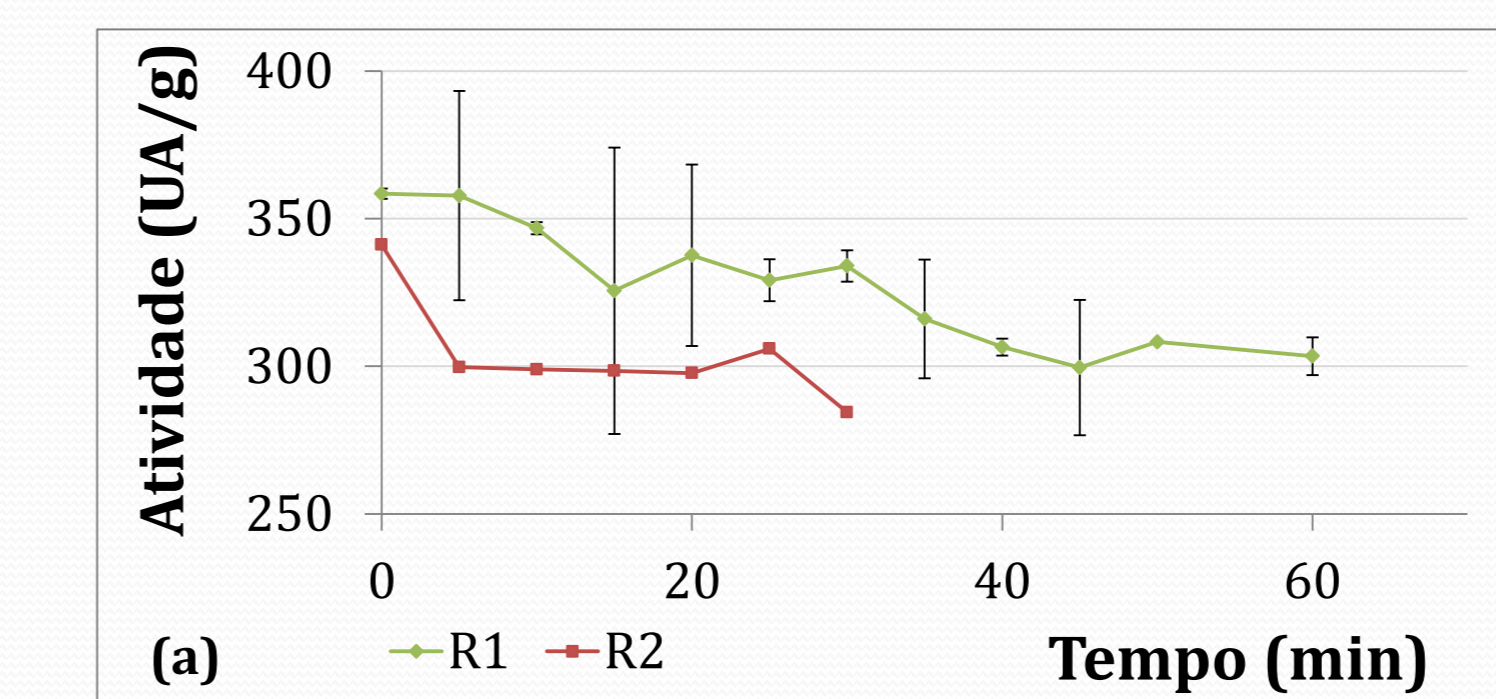


Figura 6: Ensaios preliminares pH (a) 3,0 e (b) 4,0.

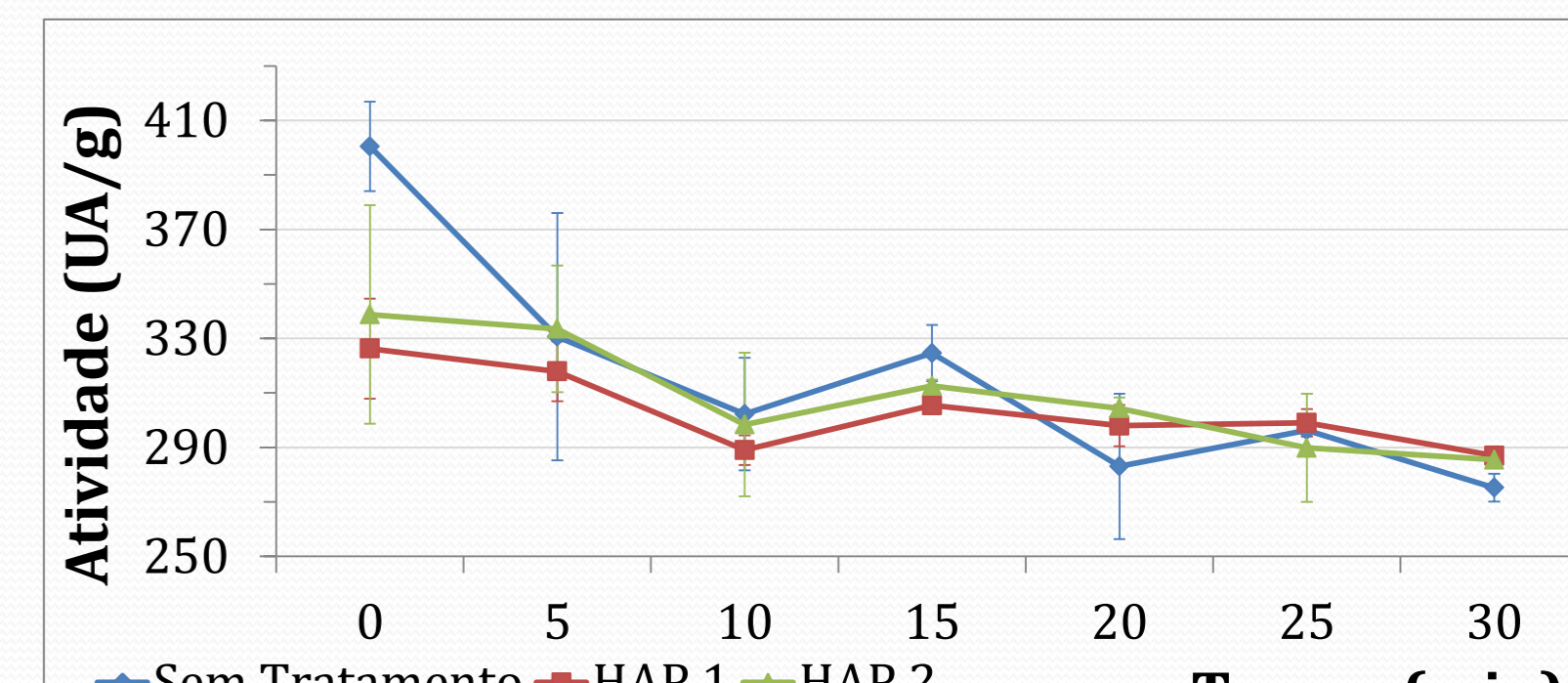


Figura 7: Ensaios Final - Estabilidade ao pH 3,0.

A estabilidade enzimática da celulase após HAP não apresentou diferença relevante em relação à amostra sem tratamento, tanto para a estabilidade térmica (80°C) quanto ao pH (3,0).

Armazenamento da Enzima

Resultados positivos da HAP na estabilidade ao armazenamento nos primeiros dias (até o 6º dia), com até 11% de aumento na atividade.

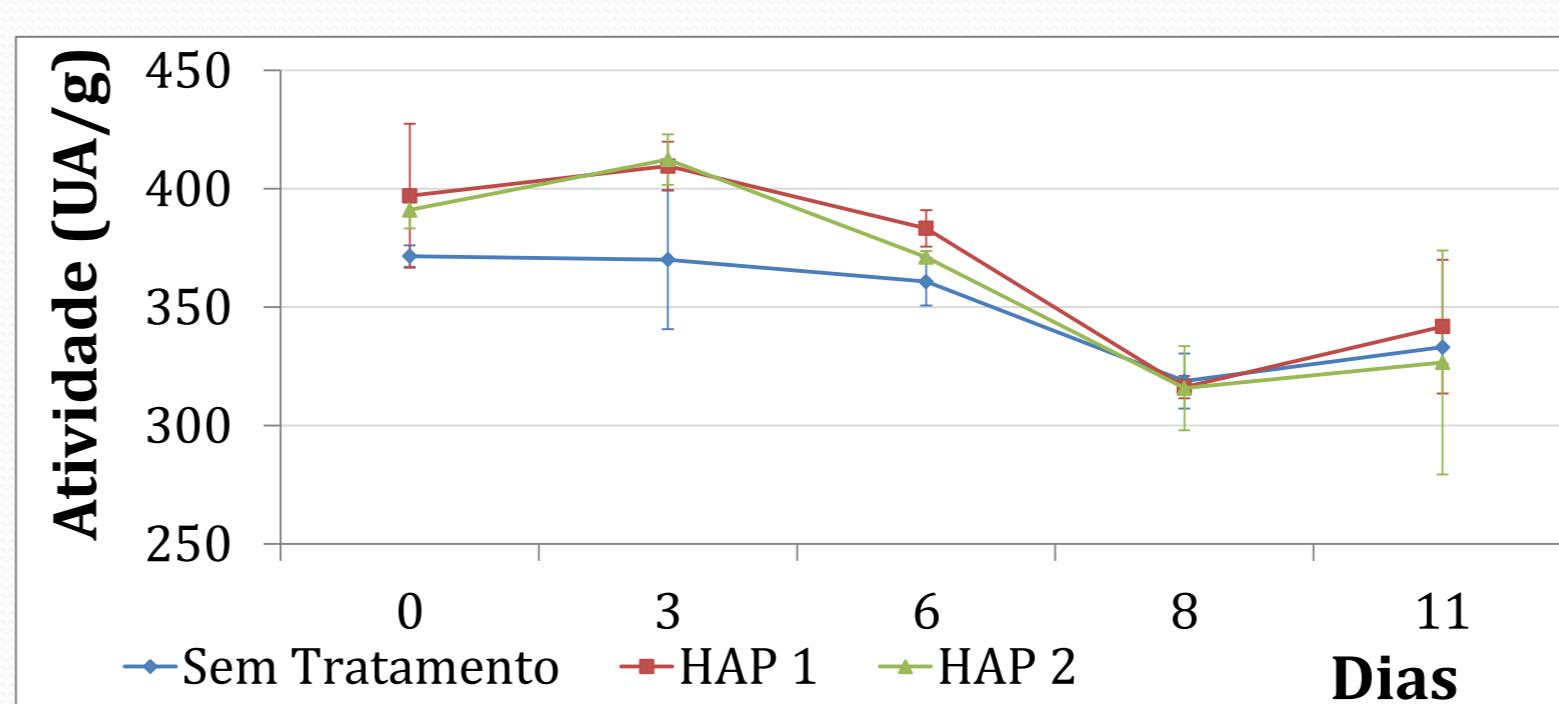


Figura 8: Estabilidade ao armazenamento (8°C, 11 dias).

CONCLUSÃO

- o Resultados variam em função da enzima e das condições de processo (pH, temperatura e pressão), não sendo possível estabelecer uma regra para o efeito da HAP.
- o Concluiu-se que a HAP em celulases representou alteração significativa na atividade enzimática em condição ótima de pH (5,0) e temperatura (60°C), não influenciando na estabilidade térmica e ao pH, e sim na estabilidade ao armazenamento até certo período.

AGRADECIMENTO

