



Evento	Salão UFRGS 2014: SIC - XXVI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2014
Local	Porto Alegre
Título	Imobilização de β -galactosidase em suporte de quitosana reticulado com genipina
Autor	CAMILA REGINA HACKENHAAR
Orientador	PLINHO FRANCISCO HERTZ

Resumo

A imobilização de enzimas é uma metodologia relativamente simples e oferece muitas vantagens, por exemplo: a reutilização eficiente da enzima, uma operação contínua, maior estabilidade térmica e operacional. A fim de desenvolver um processo mais seguro para a indústria de laticínios, preparamos um suporte à base de quitosana entrecruzada com genipina para a imobilização de β -galactosidase de *Aspergillus oryzae*. A genipina é um composto que pode ser obtido a partir dos frutos da *Genipa americana* e da *Gardenia jasminoides* Ellis e é conhecida por ser 5000 a 10000 vezes menos citotóxica que o glutaraldeído, o qual é tradicionalmente utilizado como agente de entrecruzamento. Verificou-se o efeito da imobilização na retenção da atividade enzimática, na estabilidade térmica, na estabilidade operacional e na síntese de galactooligosacarídeos (GOS). As esferas de quitosana foram preparadas pelo método de precipitação, resumidamente: a quitosana (2 % m/v) foi dissolvida em ácido acético (0,35 M) e gotejada em uma solução de NaOH 1 M e etanol 26 % (v/v). As esferas foram lavadas e posteriormente incubadas, durante 8 h, com uma solução de β -galactosidase (2 mL, 20 U mL⁻¹), preparada em tampão fosfato (pH 7,0). O entrecruzamento foi realizado pela adição de 500 μ L (0,5 % p/v) da solução de genipina em pH 7 e foi deixada reagir durante 15 h, sob agitação suave. A atividade da β -galactosidase livre e imobilizada foi medida utilizando o substrato cromogênico *o*-nitrofenil- β -D-galactopiranosídeo (ONPG). Para os estudos de estabilidade térmica a 60 °C, a enzima imobilizada foi incubada em tubos selados, em ausência e presença de lactose (40 % p/v). A estabilidade operacional foi avaliada em diferentes bateladas de hidrólise com uma solução tamponada de lactose (5 % p/v; pH 4,5). A síntese de GOS foi estudada com a enzima imobilizada em diferentes condições de pH, temperatura e concentração inicial de lactose, sendo analisadas por cromatografia líquida de alta eficiência. A enzima imobilizada nestas condições apresentou uma atividade residual de 51 % quando comparada à enzima livre, já que os processos de imobilização podem afetar a conformação da enzima. Em presença de uma solução tamponada de lactose (40 % p/v), a enzima imobilizada apresentou uma melhoria na sua estabilidade térmica: após 540 minutos de incubação a 60 °C, a enzima imobilizada apresentou 63 % de atividade residual, sendo completamente inativada após 180 min de incubação em ausência de lactose. A enzima imobilizada manteve 100 % da sua atividade inicial após 25 bateladas de hidrólise da lactose. Além disso, foram alcançados rendimentos de 30 % na síntese de GOS, sendo que o fator que mais influenciou neste resultado foi a concentração inicial de lactose. A partir destes resultados, pode-se concluir que a β -galactosidase de *A. oryzae* imobilizada em quitosana por entrecruzamento com genipina apresentou uma satisfatória retenção de atividade enzimática, rendimento na síntese de GOS, estabilidade térmica e estabilidade operacional na hidrólise da lactose. Além disso, o suporte utilizado apresenta características interessantes, como o baixo custo e a segurança do ponto de vista toxicológico, características fundamentais para fins de aplicação na indústria de alimentos.