

INFLUÊNCIA DO pH E TEMPERATURA NA IMOBILIZAÇÃO DE β -GALACTOSIDASE EM ESFERAS DE QUITOSANA COM GENIPINA

Autora: Fernanda Dias Cardoso ICTA UFRGS
Orientador: Plinho Francisco Hertz Laboratório de Enzimologia

INTRODUÇÃO

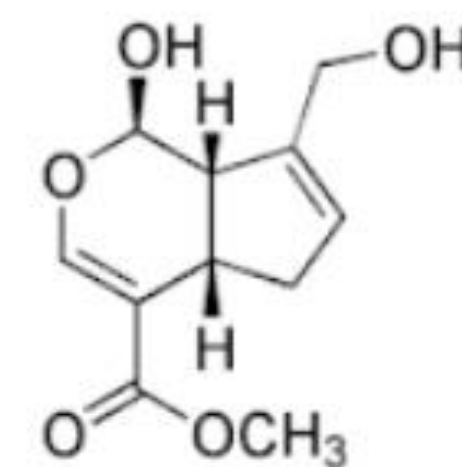
A imobilização de enzimas é uma alternativa para torná-las mais estáveis e ter uma utilização mais viável e vantajosa industrialmente.

A genipina como agente de entrecruzamento colabora com a estabilidade e, em comparação com agentes já utilizados, apresenta menor toxicidade. Além disso, é um composto natural extraído da *Genipa americana* L. (genipapo), planta nativa de regiões que vão desde o sul do México passando pela América Central e até a zona do Amazonas.



Genipa americana L.

EXTRAÇÃO



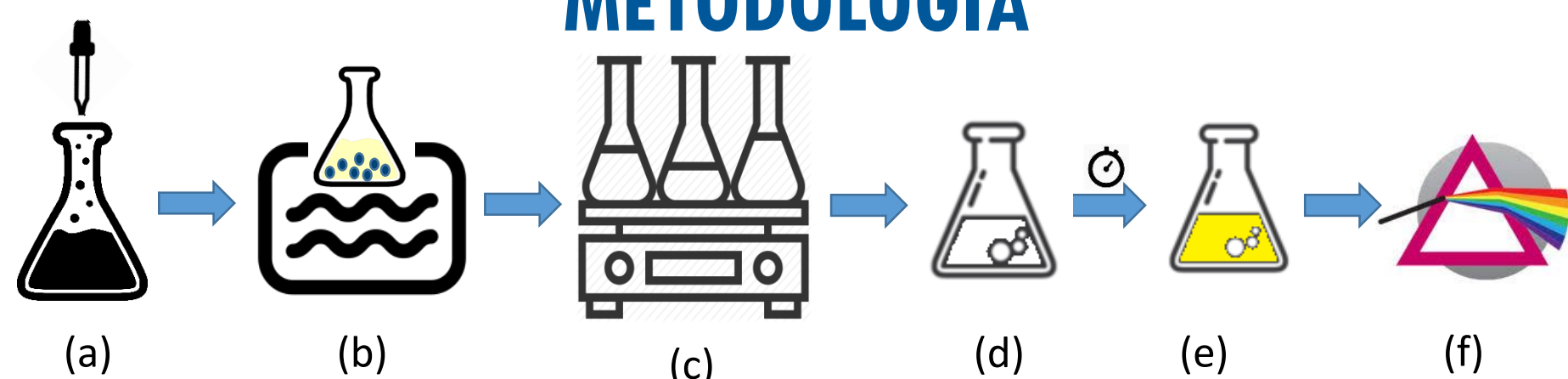
Genipina

(NERI-NUMA et al., 2017)

OBJETIVOS

- Avaliar pH, tempo e temperatura de ativação do suporte para a imobilização da β -galactosidase em esferas de quitosana utilizando genipina como agente de entrecruzamento;
- Avaliar a atividade operacional do produto obtido.

METODOLOGIA



Produção de esferas de quitosana (KLEIN et al., 2012) (a); ativação das esferas com solução 0,15 % (p/v) de genipina a 60 °C por 1 h (b); imobilização da β -galactosidase por 16 h (c).

Análise da atividade enzimática: utilização de o-nitrofenil-galactopiranosídeo (ONPG) como substrato (d e e); a determinação em espectrofotômetro a 415nm (f).

Estabilidade operacional: análise em ciclos de 250 minutos a 40 °C usando lactose 5 % (p/v).

RESULTADOS

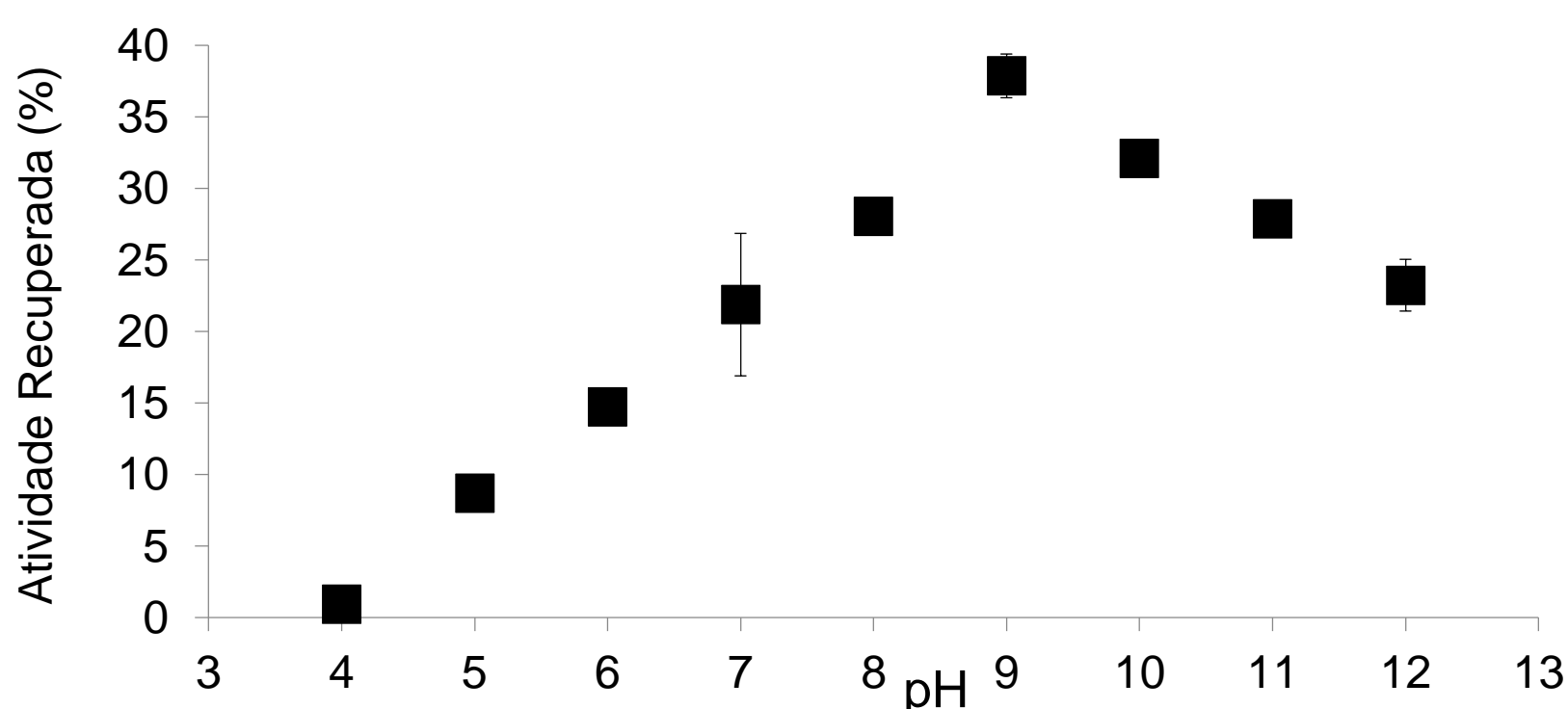


Fig. 1 Influência do pH na ativação do suporte (■). A ativação foi feita utilizando solução de genipina 0,15 % (37 °C por 3 h) e solução enzimática a 10 U mL⁻¹.

Temperatura (°C)	Tempo (h)	Rendimento da imobilização (%)	Eficiência da imobilização (%)	Atividade recuperada (%)	Atividade específica (U g ⁻¹)
25	6	58.5±0.2 ^e	42.5±3.0 ^{abc}	24.9±1.9 ^f	511.1±38.0 ^f
	12	56.1±4.7 ^e	45.8±4.2 ^a	25.5±0.4 ^{ef}	524.8±7.8 ^{ef}
	24	59.7±0.5 ^e	44.7±0.6 ^a	26.7±0.6 ^{def}	548.8±12.3 ^{def}
37	2	80.7±2.1 ^{abcd}	30.5±1.1 ^f	24.7±0.3 ^f	506.7±6.7 ^f
	3	79.2±1.7 ^{abcd}	35.7±0.7 ^{cdef}	28.3±0.9 ^{bcdef}	681.0±19.0 ^{bcdef}
	6	87.7±1.3 ^a	33.2±2.4 ^{ef}	29.1±1.7 ^{bcdef}	598.8±35.3 ^{bcdef}
50	0.5	76.6±2.3 ^{bcd}	39.4±1.0 ^{abcde}	29.7±0.9 ^{bcde}	609.8±18.7 ^{bcde}
	1	74.6±4.4 ^d	35.9±1.3 ^{cdef}	27.1±1.4 ^{cdef}	557.7±27.8 ^{cdef}
	2	76.5±7.5 ^{bcd}	35.3±2.8 ^{ef}	27.9±1.6 ^{bcdef}	574.2±31.9 ^{bcdef}
60	3	80.5±5.7 ^{abcd}	34.4±0.8 ^{ef}	28.0±1.4 ^{bcdef}	574.9±29.2 ^{bcdef}
	0.5	75.0±2.8 ^{cd}	42.4±1.4 ^{abcd}	31.8±0.5 ^b	653.7±9.4 ^b
	1	86.1±1.9^{ab}	43.5±3.6^{ab}	37.5±2.4^a	769.8±50.1^a
70	2	86.6±1.7 ^a	35.6±4.2 ^{def}	30.8±3.5 ^{bcd}	633.1±72.0 ^{bcd}
	0.5	82.5±1.6 ^{abcd}	37.8±0.8 ^{bcde}	31.2±0.8 ^{bcd}	640.6±16.5 ^{bcd}
	1	84.7±1.0 ^{abc}	37.3±0.2 ^{bcdef}	31.6±0.2 ^{bc}	648.9±4.3 ^{bc}

Tabela 1. Efeito do tempo e da temperatura na ativação do suporte. O suporte foi ativado a pH 9.0 e solução de genipina 0,15 %. A imobilização foi feita com concentração de enzima 10 U mL⁻¹ em tampão acetato pH 4.5.

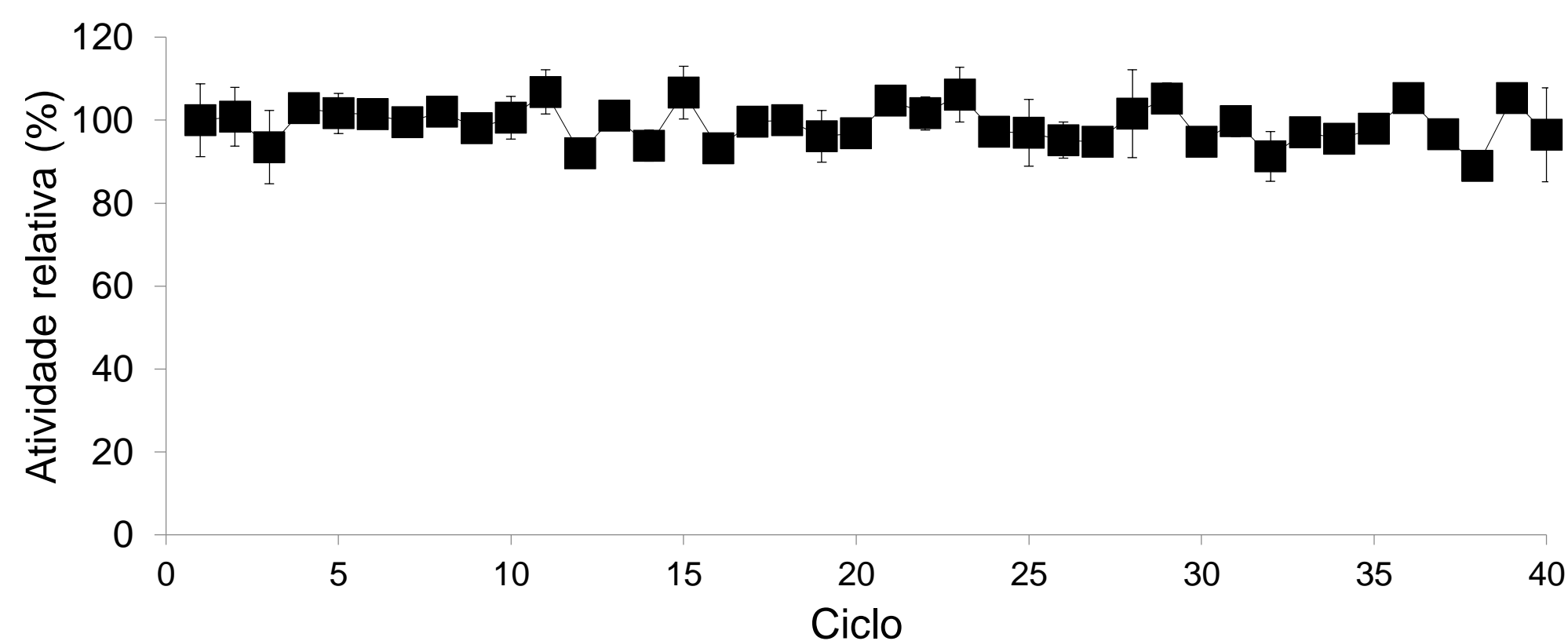


Fig. 2 Ciclos da estabilidade operacional. Ciclos de 250 minutos cada, realizado com 12 mg de suporte por mL de lactose 5 % (p/v).

CONCLUSÃO

As melhores condições para ativação do suporte se deram em pH 9 por 1 h a 60 °C, resultando em uma atividade recuperada de 37,5 % e uma alta estabilidade operacional ao longo de 40 ciclos.

BIBLIOGRAFIA

- Delmar, K., & Bianco-Peled, H. (2015). The dramatic effect of small pH changes on the properties of chitosan hydrogels crosslinked with genipin. *Carbohydrate Polymers*, 28-37.
- Klein, M. P., Nunes, M. R., Rodrigues, R. C., Benvenutti, E., Costa, T. M., Hertz, P. F. (2012). Effect of the support size on the properties of β -galactosidase immobilized on chitosan: Advantages and disadvantages of macro and nanoparticles. *Biomacromolecules*, 27-36.