

Caracterização de enzimas comerciais aplicadas no processamento do couro

Jhonnattas C.Cavalheiro¹, Aline Dettmer², Mariliz Guterres Soares³, Marco A. Z. Ayub³

1-Bolsista de iniciação científica, 2-Bolsista de doutorado, 3-Professores Orientadores

INTRODUÇÃO

A indústria do couro tem papel importante na economia nacional. O Brasil produziu, em 2009, 43,60 milhões de peles e apresenta o maior rebanho comercializável do mundo. O Rio Grande do Sul contribui com o maior número de estabelecimentos de curtimento (220 em 2008) gerando 13.000 empregos nesse Estado. As exportações brasileiras de couros em 2009 somaram US\$ 1,16 bilhões. Porém, a atividade é notavelmente conhecida pelo alto impacto ambiental, devido a elevada quantidade de água e de energia demandadas e também pelo emprego de produtos químicos nocivos a saúde humana e ao meio ambiente. Assim sendo, na busca de uma produção mais limpa e capaz de gerar produtos de alta qualidade, a biotecnologia vem sendo estudada e empregada a fim de produzir produtos que possam ser aplicados no processamento de peles. Entre eles, esta a aplicação de enzimas nas etapas de remolho e caleiro, que tem por finalidade a redução do tempo desta etapa bem como do volume de água empregado, diminuindo assim o impacto ambiental e o gasto energético.

OBJETIVOS

O objetivo deste trabalho é o estudo e a caracterização de enzimas comerciais empregadas na etapa de remolho, caleiro e purga. Foram determinados melhor pH e temperatura para atuação das enzimas, além de sua estabilidade térmica e a ação de inibidores e/ou compostos químicos utilizados juntamente com as enzimas, tais como: EDTA, álcool graxo (Busperse), carbonato de cálcio, carbonato de sódio, tensoativo (Eusapon) e sulfeto de sódio.



Figura 1: Fulões utilizados na etapa do caleiro.



Figura 2: Couro salgado, antes do caleiro

MATERIAIS E MÉTODOS

Determinação da atividade enzimática

Foram testadas 5 enzimas comerciais (Buzyne 7706, Buzyne 7703, Tanzyme CD 05, RD 05 e P 10). As soluções enzimáticas foram preparadas imediatamente antes do uso, na concentração de 5 mg de enzima/ml água destilada. A atividade proteolítica foi determinada utilizando azocaseína como substrato. Foram misturados 100µl de substrato, azocaseína 10mg/ml com 100µl de tampão com os valores de pH entre 8 e 12 e incubados a 37°C por 30 minutos, a reação foi interrompida adicionando-se 500 µl de ácido tricloroacético (TCA) 10%. A fim de se concluir sobre a melhor temperatura para cada enzima, manteve-se o pH observado como melhor na etapa anterior e variou-se a temperatura entre 28°C e 75°C.

Após a centrifugação a 10.000x g por 5 minutos, adicionou-se aos 800 µl do sobrenadante 200 µl de NaOH 1,8N. A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm. Uma unidade enzimática foi definida como a quantidade de enzima necessária para aumentar a absorbância em 0,01 a 420 nm nas condições de tempo e temperatura do teste. O "branco" foi preparado adicionando-se as mesmas quantidades de tampão, TCA e solução enzimática ao substrato, porém o TCA foi adicionado antes da solução enzimática. Os inibidores/produtos químicos (EDTA – 5 mM, Busperse 0,1% - álcool graxo -, carbonato de cálcio 0,5% e 1%, carbonato de sódio 0,3% e Eusapon 0,1% – detergente não iônico) foram testados colocando as respectivas soluções em contato com as solução enzimática por 15 minutos antes da determinação da atividade enzimática.

A verificação da estabilidade térmica foi realizada incubando-se frações da solução enzimática durante 15min, 30min, 60min e 120min; nas temperaturas de 37°C e 55°C e em seguida, a atividade enzimática foi determinada a 37°C, conforme descrito anteriormente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De maneira geral, observou-se que para as diferentes enzimas testadas, o pH e a temperatura mostraram interferência significativa, sendo que praticamente todas apresentaram sua atividade ótima em pH 9,0 – 10,0 e temperatura em torno de 55°C. O EDTA causou redução significativa na atividade da enzima RD 04, provavelmente, pela presença de cátions metálicos no sítio ativo desta enzima. A enzima P10 foi totalmente inibida pela ação do carbonato de cálcio. A enzima 7703 sofreu aumento de sua atividade quando em contato com o sulfeto de sódio, as demais, apresentaram diminuição da atividade enzimática. Para o teste de estabilidade térmica, verificou-se que quanto maior o tempo de pré-aquecimento e maior a temperatura, menor é a atividade enzimática obtida.

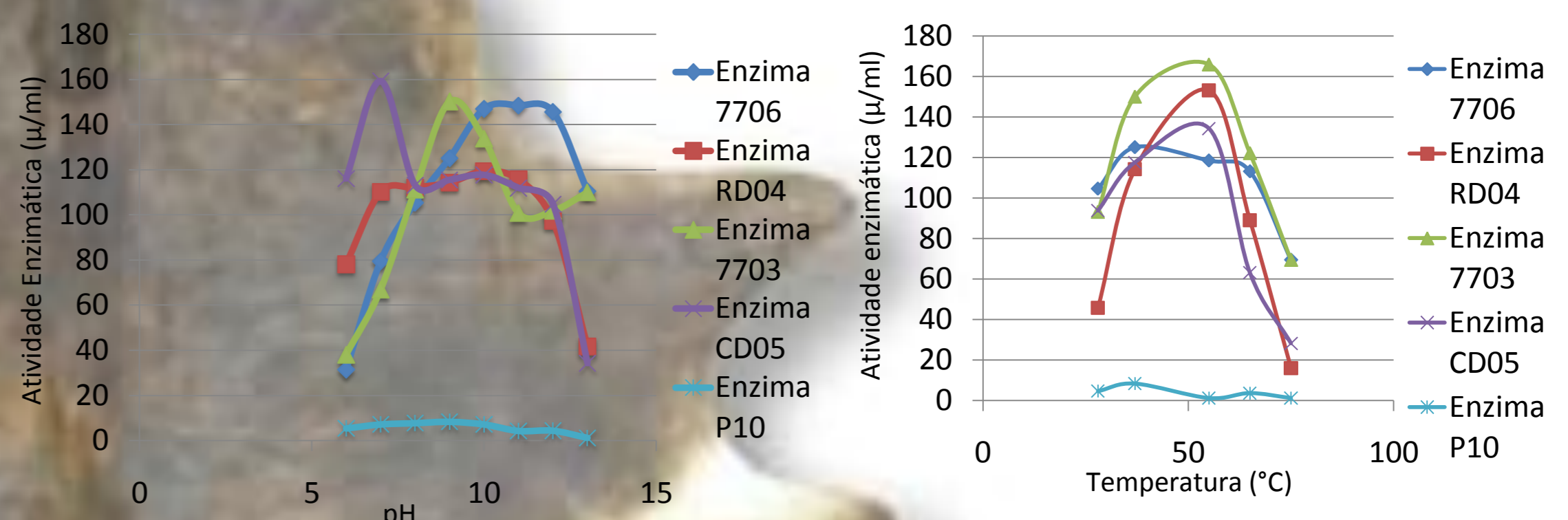


Figura 3: Atividade enzimática (U/ml) em função do pH em azocaseína

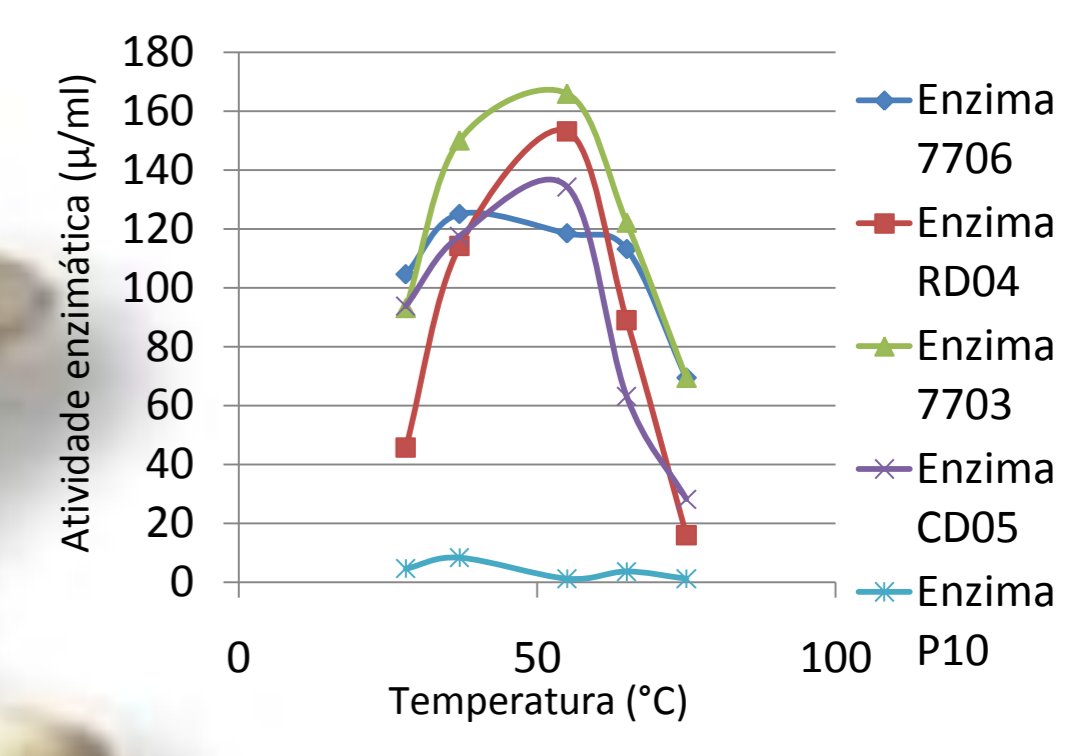


Figura 4: Atividade enzimática (U/ml) em função da temperatura em azocaseína.

Tabela 1: Atividade residual proteolítica (em %) para os diferentes produtos químicos.

	Sulfeto de Sódio (1%)	Carbonato de Sódio (0,3%)	Carbonato de Cálcio (1%)	Carbonato de Cálcio (0,5%)	Eusapon (detergente não – iônico)	EDTA 5mM	Busperse (0,1% - álcool graxo)
Enzima 7706	75,48	98,21	84,85	82,52	81,75	103,51	96,43
Enzima RD04	54,19	97,05	113,34	107,62	91,70	32,84	96,29
Enzima 7703	138,88	102,87	75,67	84,95	87,34	86,87	111,38
Enzima CD05	56,54	97,24	78,92	76,67	87,53	69,23	100,26
Enzima P10	44,20	103,03	0	0	161,36	87,18	85,03

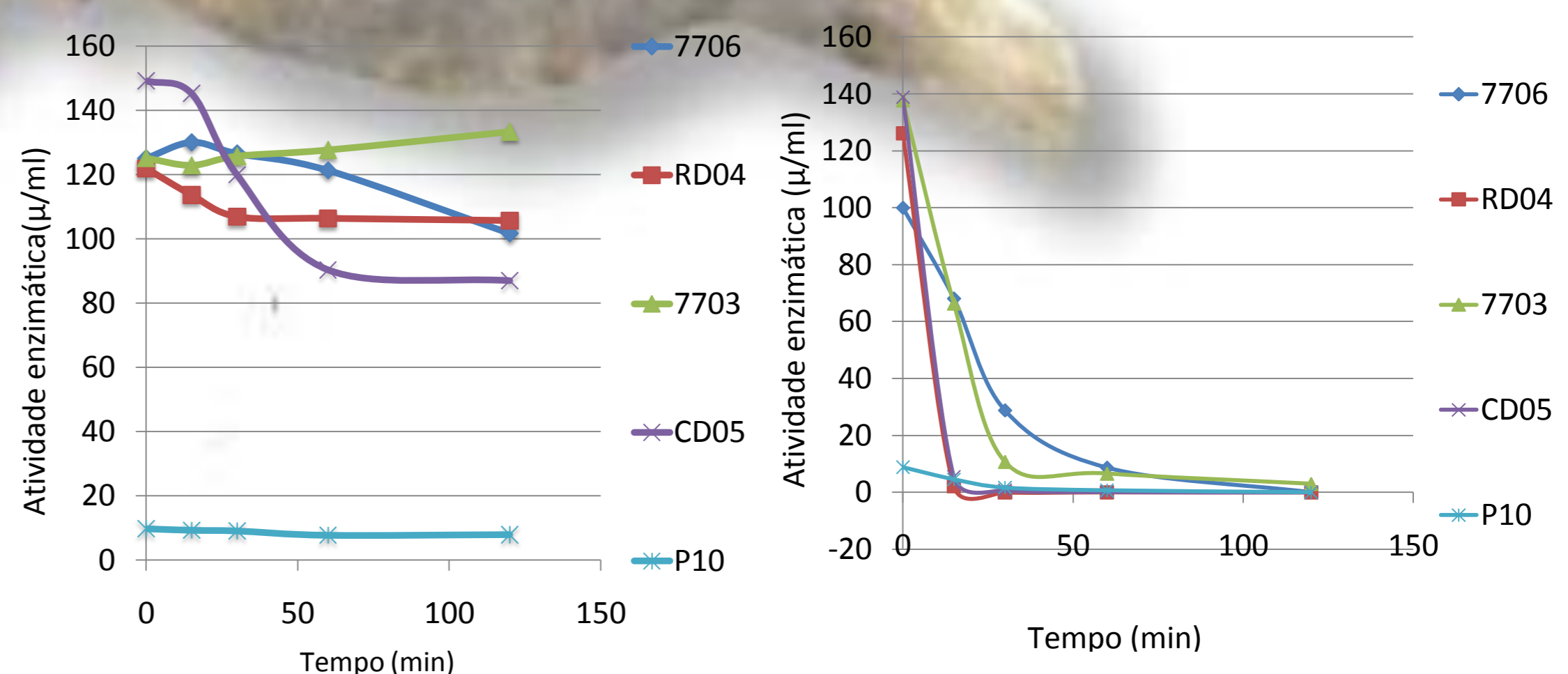


Figura 5: Estabilidade térmica à 37°C

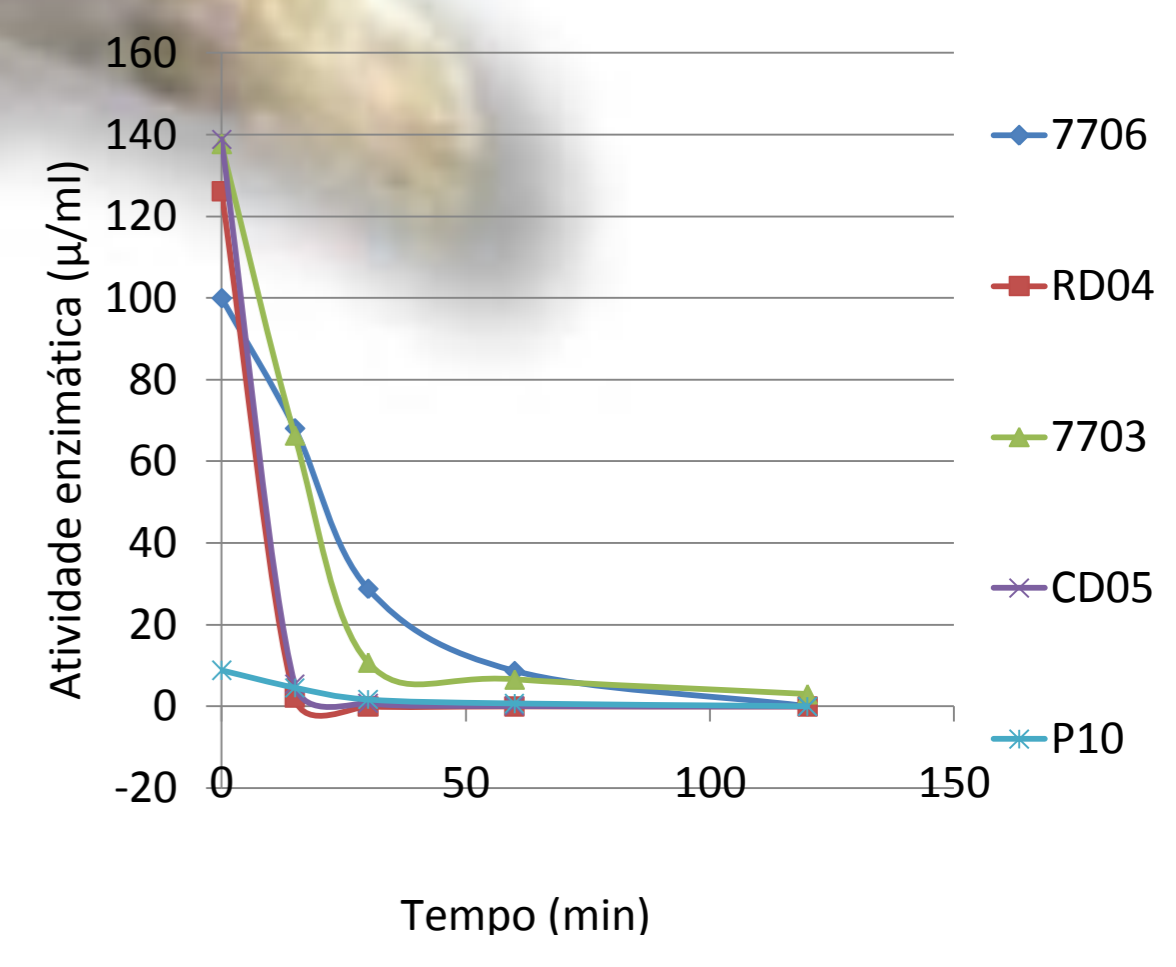


Figura 6: Estabilidade térmica à 55°C

CONCLUSÃO

Podemos concluir que as enzimas estudadas são adequadas para a aplicação no processamento de couros. Os resultados obtidos neste trabalho serão úteis tanto para futuros trabalhos acadêmicos como também para utilização na indústria, já que características importantes das enzimas em questão foram detalhadas. Esses dados podem ser utilizados para maior e melhor aplicação das enzimas nos processos produtivos.