

IMOBILIZAÇÃO DE BETA-GLUCOSIDASE EM NANOFOLHAS DE GRAFENO APRESENTANDO POTENCIAL PARA VALORIZAÇÃO DE RESÍDUOS LIGNOCELULÓSICOS

Everton Skoronski¹, Diego Hoefling Souza²

¹ Orientador, Departamento de Engenharia Ambiental, CAV – everton.skoronski@udesc.br.

² Acadêmico(a) do Curso de Engenharia Ambiental, CAV - bolsista PROIP/UDESC

Palavras-chave: β -glucosidase. Grafeno. Imobilização enzimática.

O objetivo do presente trabalho foi a imobilização de β -glucosidase em nanofolhas de grafeno, de modo a caracterizá-las quanto as suas condições ótimas de atividade hidrolítica, bem como quanto a sua estabilidade no suporte e posteriormente avaliar seu potencial na valorização de resíduos lignocelulósicos provenientes da indústria de papel e celulose. Os experimentos de imobilização foram conduzidos com enzima β -glucosidase comercializada pela Toyobo do Brasil em sua forma livre. A imobilização da enzima deu-se por adsorção física e foi constituída no contato de solução enzimática em diferentes concentrações (de 5 a 50 g.L⁻¹) e condições de pH (de 3 a 7,5), preparada em tampão acetato 0,1M, com nanofolhas de grafeno por um período de duas horas a 25 °C com agitação em equipamento de ultrassom. A determinação do pH ótimo da β -glucosidase comercial em sua forma livre e imobilizada foi realizada pela variação do valor do pH do substrato (solução celobiose 5 g.L⁻¹), numa faixa de 3 a 7,5 e temperatura de 55 °C. A influência da temperatura na atividade enzimática foi verificada com substrato em pH 5,5 e temperatura de reação variável entre 30 e 75 °C. A eficiência na hidrólise da celobiose foi determinada através da concentração de glicose gerada no meio. Esta foi obtida através de método colorimétrico com emprego da enzima glicose oxidase, que gera fenol no meio reacional para posterior complexação com 4 – aminoantipirina, com leitura em espectrofotômetro a 500 nm. Paralelamente foi realizado experimento de hidrólise completa, onde foi empregada como substrato pasta celulósica proveniente da indústria de papel e celulose. Foram utilizadas, além da β -glucosidase Toyobo, as enzimas celulase (NS 22086), com atividade de 1.000 BHU/g e massa específica de 1,15 g/mL e β -glucosidase (NS22118), com atividade de 1,0 CBU/g e massa específica de 1,20 g/mL, distribuídas em sua forma livre pela Novozymes. Estas foram submetidas a 36 diferentes ensaios, por um período de 24 h, onde variou-se condições de temperatura (de 30 a 65 °C), pH (de 3 a 7) e concentração de substrato (de 1,5 a 3,5%), bem como a quantidade de cada enzima. Verificou-se que o pH ótimo de 5,5 para a enzima livre foi alterado para 4,5 para a β -glucosidase imobilizada (Fig. 1). No entanto, para a faixa de pH estudada, o comportamento das enzimas livre e imobilizada foram semelhantes, sobretudo devido à baixa afinidade da enzima com o suporte, o que não provoca alterações na estrutura tridimensional da enzima. Também foi possível constatar que a temperatura ótima da enzima

imobilizada apresentou elevação quando comparada à sua forma livre (Fig. 2). Já a atividade relativa apresentou-se semelhante na maior faixa de temperatura.

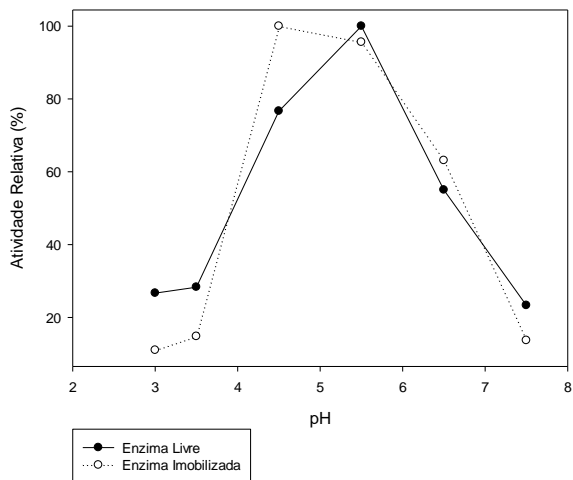


Fig. 1 – Influência do pH na atividade enzimática enzimática

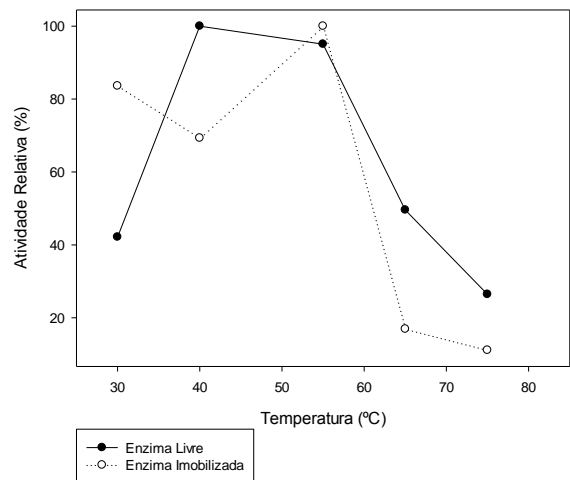


Fig. 2 – Influência da temp. na atividade enzimática

Quanto ao reúso, constatou-se que na terceira utilização a enzima imobilizada teve perda de cerca de 70% na sua atividade, aumentando para mais de 80% na quarta utilização. Isto pode ser explicado pelo fato de estar ligada ao suporte apenas por adsorção física e poder desprender-se facilmente em meio aquoso. Para a hidrólise da pasta celulósica, foi possível verificar que as condições centrais apresentaram resultados satisfatórios, porém observou-se dificuldade na reprodutibilidade, visto que as réplicas apresentaram variação média de 30% com relação ao melhor resultado.