

AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE DE LACASE PARA APLICAÇÃO EM MODIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE LIGNINA

Lauri Marcos da Silva

Acadêmico em Engenharia de Bioprocessos e Biotecnologia, Universidade Positivo

Patrícia Raquel Silva Zanoni

Pesquisadora da Embrapa Florestas, patricia.silva@embrapa.br

Francine Ceccon Claro

Doutoranda do Programa de Engenharia e Ciências dos Materiais (PIPE), Universidade Federal do Paraná

Na indústria de papel e celulose, o processo de polpação Kraft atinge eficiências de remoção de cerca de 90% da lignina da madeira, produzindo o chamado Licor Negro. Este subproduto é comumente reaproveitado, sendo concentrado por evaporação para posterior queima com a finalidade de aquecimento e geração de energia. Entretanto, pesquisas apontam que é possível agregar maior valor à lignina por meio da utilização de enzimas para promover modificações bioquímicas de quebra ou de síntese de novos produtos a partir de monômeros. O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência do pH e da temperatura na atividade enzimática de uma lacase comercial, visando à futura aplicação no biorrefino de lignina Kraft. Com base em um experimento prévio foi possível realizar um planejamento composto central, determinando a faixa de pH de 3,0 a 8,0 e de temperatura de 20 °C a 70 °C, com o ponto central (pH 5,5 e temperatura 45 °C) realizado em triplicata. Para avaliar a atividade enzimática, 100 µL de lacase (fator de diluição de 2.000 a 40.000) foram adicionados a 1,7 mL de tampão acetato de sódio (para pH 3,0 e 5,5) ou tampão fosfato de sódio (para pH 8,0), incubados em banho-maria em temperaturas de 20 °C, 45 °C e 70 °C e mantidos em reação durante 5 minutos com 200 µL de ácido 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico) ABTS (10 mM). A absorbância foi lida em espectrofotômetro a 420 nm e a atividade foi calculada considerando uma unidade enzimática como sendo a quantidade de enzima necessária para oxidar 1 µmol de ABTS por minuto. A avaliação demonstrou melhores atividades em pHs baixos e temperaturas menores, indicando como condições ótimas pH 5,0 e temperatura de 32 °C. Seguindo esses parâmetros obtidos foi realizado um experimento em triplicata para validação, obtendo-se uma atividade de $1,59 \cdot 10^6$ U.L⁻¹. Em estudos realizados neste tema é comum o uso de experimentos univariados (de pH e temperatura), no entanto, verificou-se que experimentos multivariados permitem otimizar condições com menor número de experimentos e avaliar efeitos individuais e sinérgicos. Com os dados obtidos por esse estudo é possível extrapolar condições ideais para a modificação enzimática de lignina kraft.

Palavras-chave: Lacase, Lignina Kraft, Biorrefino

Apoio/financiamento: Embrapa Florestas; Universidade Federal do Paraná; Universidade Positivo; Capes