

Fixação de lacase em filme de celulose nanofibrilada para utilização em biorrefino de lignina

Rafaela Welzel da Silva

Graduanda em Biotecnologia na Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Washington Luiz Esteves Magalhães

Engenheiro químico, doutor em Ciências e Engenharia de Materiais,
pesquisador da Embrapa Florestas, washington.magalhaes@embrapa.br

Patrícia Raquel Silva Zanoni

Engenheira química, doutora em Engenharia,
pesquisadora da Embrapa Florestas

A lignina presente no licor negro das indústrias de celulose tem sido utilizada para geração de energia. Faz-se necessário o desenvolvimento de novas tecnologias para uso desta matéria-prima ainda não valorizada. O objetivo deste trabalho foi fixar a enzima lacase sobre celulose nanoestruturada, visando futuro uso em conversões bioquímicas da lignina Kraft. A imobilização permite recuperação da enzima do meio reacional, propiciando economia do processo. O filme de nanocelulose (20 g m^{-2}) é preparado a partir de suspensão aquosa de polpa celulósica de eucalipto (3,39%), homogeneizada em liquidificador e desfibrilada em moinho coloidal por 20-30 passes. A suspensão é aplicada sobre uma peneira 60 mesh, deixando-a em repouso, seguindo para estufa de $60 \text{ }^\circ\text{C}$. A próxima etapa consiste na imersão do filme em solução aquosa de KOH 0,5 M por 3 h, lavagem com água deionizada, e oxidação em solução de $4,2 \text{ mg mL}^{-1} \text{ NaIO}_4$ por 7 h a $30 \text{ }^\circ\text{C}$. A imobilização ocorre utilizando 1 g do filme já oxidado em 50 mL de tampão acetato de sódio 100 mM contendo $0,1 \text{ g.L}^{-1}$ de lacase comercial, por 30 minutos a $30 \text{ }^\circ\text{C}$ e 150 rpm. A reação continua a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ e 30 rpm por 2 h, em seguida se adiciona glutaraldeído 0,5% mantendo a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ durante a noite. Os filmes são lavados com tampão acetato de sódio, deixados em tampão Tris-HCl 100 mM por 100 min, lavados novamente e armazenados em tampão acetato. A eficiência do processo de oxidação foi avaliada por titulação com cloreto de hidroxilamônio 0,4 M e NaOH 0,05 M, que revelou que os filmes oxidados apresentaram 17 vezes mais grupos aldeído do que os sem oxidação. Com relação ao método de imobilização, a atividade de lacase foi avaliada tanto nas soluções de enzima livre quanto nas imobilizadas, utilizando ABTS (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)) como substrato, a $30 \text{ }^\circ\text{C}$, leitura em espectrofotômetro a 420 nm. Não foi observada a queda esperada na atividade de lacase em solução, antes e após a imobilização. Embora ainda insuficiente, ocorreu imobilização de pequena fração de lacase no filme (atividade de $0,006 \text{ U.g}^{-1}$), em contraste com a atividade nula do filme sem imobilização.

Palavras-chave: Imobilização; Filme nanocelulose; Atividade enzimática.

Apoio/Financiamento: Embrapa Florestas; Pontifícia Universidade Católica do Paraná.