

Imobilização sequencial de enzimas celulolíticas

*Mariana Bisinotto Pereira¹, Bruno Lemos Nogueira², Dasciana de Sousa Rodrigues³,
Inti Doraci Cavalcanti Montano⁴, Carlos Alberto Galeano Suarez⁵*

Resumo

A imobilização de enzimas é uma estratégia utilizada para reduzir o custo da aplicação destes biocatalisadores, pois aumenta a sua estabilidade e permite a sua recuperação e reuso. Para atingir a hidrólise completa da celulose utilizando enzimas, é necessário um coquetel composto por pelo menos 17 enzimas diferentes. A imobilização simultânea dessas enzimas é um dos maiores desafios nessa área de conhecimento. Neste trabalho, o objetivo foi avaliar uma nova estratégia para a imobilização de enzimas celulolíticas, ainda não descrita na literatura científica. A nova estratégia consistiu em imobilizar uma parte das enzimas por precipitação e entrecruzamento e outra parte por ligação covalente direta sobre os aglomerados formados na primeira etapa de imobilização. A precipitação e entrecruzamento causa a inativação de algumas enzimas, logo na imobilização sequencial somente parte dessas enzimas é precipitada, e servirão como suporte, enquanto que as enzimas imobilizadas na etapa seguinte terão mais chance de manter sua atividade catalítica, visto que serão submetidas a um processo de imobilização mais brando. Para preparar os aglomerados, foi utilizado Cellic Ctec 3 (produto comercial). As enzimas foram precipitadas usando isopropanol e, em seguida, os aglomerados foram entrecruzados com glutaraldeído para evitar sua fragmentação durante o uso e também para ativar a superfície desse agregado para o recebimento posterior das demais enzimas. Após a imobilização, o biocatalisador foi exaustivamente lavado com tampão citrato, pH 5. O desempenho desse biocatalisador foi avaliado na hidrólise de bagaço de cana-de-açúcar pré-tratado por organosolv, em reator encamisado com 2,5% de sólido. A concentração de glicose liberada nesse ensaio foi de 1,25 g/L de glicose, o que corresponde a um rendimento de 6,71%. O baixo rendimento de hidrólise pode ter sido resultante de vários fatores, como, por exemplo: (i) inativação das enzimas durante a formação dos aglomerados; (ii) dificuldade de acesso dos substratos aos sítios catalíticos; (iii) a baixa atividade inicial das enzimas presentes no aglomerado, (iv) pequena quantidade de enzimas ativas na superfície dos aglomerados ou imobilização inadequada dessas enzimas, ou uma combinação desses fatores. Conclui-se que o biocatalisador desenvolvido usando a metodologia descrita acima não foi eficaz para a hidrólise da biomassa, e que é necessário o aprimoramento da metodologia por meio da utilização de outras enzimas e ajustes nas condições de imobilização.

Auxílio Financeiro: Embrapa e Capes.

Palavras-chave: celulases. imobilização. hidrólise.

¹ Engenheira química, mestranda em Engenharia Química, Universidade Federal de Goiás, mariana.bisinotto@colaborador.embrapa.br.

² Engenheiro químico, pós-doutorando, Universidade Federal do Rio de Janeiro, bruno.nogueira@colaborador.embrapa.br.

³ Química industrial, pesquisadora da Embrapa Agroenergia, dasciana.rodrigues@embrapa.br.

⁴ Engenheira química, professora da Universidade Federal de Goiás, intidoca@gmail.com.

⁵ Engenheiro químico, professor da Universidade Federal de Goiás, carlogalen21@gmail.com.