

## Imobilização-estabilização multipontual da enzima papaína em suporte de óxido de nióbio visando aplicação industrial.

Juliana A.C. de Oliveira<sup>1\*</sup> (IC), Oldair D. Leite<sup>1</sup> (PQ), Poty R. de Lucena<sup>1</sup> (PQ), Pedro Oliva-Neto<sup>2</sup> (PQ)

\*[ju\\_calmon@hotmail.com](mailto:ju_calmon@hotmail.com)

1 - Universidade Federal da Bahia- ICADS, Barreiras-BA.

2 - Universidade Estadual Paulista –UNESP, Campus Assis, Assis-SP.

Palavras Chave: Imobilização multipontual, papaína, óxido de nióbio.

### Introdução

A imobilização covalente multipontual consiste na interação entre os grupos aminos de resíduos de lisina da enzima com os grupos aldeído alifáticos lineares (glioxil) do suporte<sup>1</sup>, sendo necessária a utilização de agentes ligantes como o glicidol ou o glutaraldeído para que haja a interação<sup>1</sup>. Diversos autores utilizam de proteases, como a papaína, em suas pesquisas, sendo esta enzima imobilizada em diferentes suportes por diversas metodologias<sup>2</sup>. O uso de proteases na indústria já está consolidado devido a suas vantagens, como estabilidade e o reuso, garantindo sua aplicação industrial<sup>3</sup>. Esta pesquisa tem como objetivo a imobilização da papaína por ligações multipontuais, empregando como suporte óxido de nióbio, visando a aplicação industrial.

### Resultados e Discussão

Para a síntese do suporte foi utilizado o oxalato amoniacal de nióbio  $\text{NH}_4\text{NbO}(\text{C}_2\text{O}_4)_2$  - Companhia Brasileira de Metalúrgica e Mineração, CBMM como precursor do metal. Caracterizações com Infravermelho, BET e DRX mostraram as propriedades do metal, evidenciando sua formação e dados de sua área superficial (Tabela 1).

Os testes de imobilização, atividade e estabilidade da enzima ocorreram após o tratamento do suporte de esterificação com glicidol (5,2  $\mu\text{moles}$  de glicidol/g de suporte) e posteriormente oxidação com periodato de sódio, produzindo géis glioxil-suporte.

A determinação da atividade da papaína seguiu a metodologia de Leighton *et al.*, (1973) utilizando a azocaseína sulfanilamida como substrato e o monitoramento, da hidrólise do grupo azo, espectrofotômetricamente em 440nm. A determinação de proteínas totais seguiu o método de Bradford (1976), no qual o complexo formado entre as proteínas e o reagente Comassie Blue em meio ácido é monitorado em 588 nm.

Os dados preliminares (Tabela 2) da imobilização no suporte apresentaram um rendimento de imobilização de 20% (quanto comparada às atividades). Esse valor contrasta com o rendimento conseguido por pesquisadores<sup>4</sup> que alcançaram um

rendimento de 44%, trabalhando com  $\alpha$ -amilase termoestável.

Tabela 1. Área Superficial (BET) do Óxido de Nióbio

Amostra	Área Superficial
$\text{Nb}_2\text{O}_5$ 500 °C/4h	40,61 m <sup>2</sup> /g
$\text{Nb}_2\text{O}_5$ 600 °C/2h	33,98 m <sup>2</sup> /g

Tabela 2. Atividade total da papaína em várias etapas durante o processo de imobilização em óxido de nióbio.

Etapa	Atividade total da enzima papaína (U.E.) <sup>a</sup>
Solução de enzima livre antes da Imobilização	32,4 U/mL
Após a imobilização	7,2 U/mL
Solução de enzima livre após 1 semana mantido em geladeira a 4°C	27,7 U/mL
Enzima no Suporte após 1 semana mantido em geladeira a 4°C.	8,1 U/mL

<sup>a</sup>Os valores representados são a média de três determinações

### Conclusões

O óxido ( $\text{Nb}_2\text{O}_5$ ) foi obtido com sucesso pela estratégia proposta. Os estudos preliminares de imobilização da enzima ao suporte apresentaram um rendimento de 20% da atividade, porém esta quantidade ainda inviabiliza a aplicação industrial. Contudo, um aprimoramento do procedimento de imobilização abre precedentes para futuros estudos, visando um aperfeiçoamento da metodologia.

### Agradecimentos

A CBMM - Companhia Brasileira de Mineração e Metalúrgica pela doação do oxalato amoniacal de nióbio. Ao CNPq pela concessão da bolsa de IC.

<sup>1</sup>Mateo, C.; Palono, J. M.; Fernandez-Lorente, G.; Guisan, J. M.; Fernandez-Lafuente, R. *Enzyme and Microbial Technology*. **2007**, 40 1451-1463.

<sup>2</sup>Rao, R. S.; Borkar, P. S.; Khobragade, C. N. e Sagar A. D. *Enzyme and Microbial Technology*. **2006**, 39, 958-962.

<sup>3</sup>Oliva-Neto P. *Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho - UNESP (BR/SP)*. **1991**. Patente n° PI9902510-8.

<sup>4</sup>Varavinit, S.; Chaokasem, N. e Shobsngob, S. *ScienceAsia*. **2002**, 28 247-251.