

Imobilização da Peroxidase de Raiz Forte em diferentes suportes: Amberlite IRA 67, Amberlite IRC 748 e Híbrido de Silicato com Alginato

Haryel Lima Santos¹, Ivan Martins Barreto², Maria Antônia Carvalho Lima de Jesus³, Alini Tinoco Fricks⁴, Heiddy Marquez Alvarez⁵

1. Estudante de IC. Graduando em Farmácia, Universidade Estadual de Feira de Santana, BA;* ha.ryel@hotmail.com

2. Estudante de IC. Graduando em Lic. em Química, Universidade Estadual de Feira de Santana, BA

3. Participante do projeto, Doutoranda em Biotecnologia, Universidade Estadual de Feira de Santana, BA

4. Pesquisador Biotecnologia, do ITP. UNIT, SE

5. Pesquisador do Depto. de Ciências Exatas. Orientadora, Universidade Estadual de Feira de Santana, BA

Palavras Chave: Imobilização, HRP, Suportes

Introdução

A peroxidase de raiz forte (HRP) é muito utilizada na oxidação de compostos fenólicos, por tanto, amplamente aplicada no setor ambiental para monitoramento de contaminantes em efluentes provenientes das indústrias. As reações de biotransformação podem ser realizadas com a enzima livre ou imobilizada. Poucos trabalhos utilizam a enzima livre nas reações de biotransformação devido à dificuldade em se recuperar a enzima do meio reacional e a desnaturalização da mesma devido à utilização de determinados solventes e/ou temperature.

A imobilização da HRP permite a utilização da enzima em processos oxidativos em geral e confere maior estabilidade.

Os materiais utilizados como suporte devem ter um custo baixo, facilidade operacional em grande escala, resistência mecânica para uma longa vida útil e baixa ou nenhuma toxicidade.

Neste trabalho utilizamos como suportes a resina amberlite IRA 67, amberlite IRC 748 e suporte híbrido de silicato com alginato. A resina amberlite IRA 67 é uma resina aniônica fraca com matriz acrílica do tipo gel. A resina amberlite IRC 748 é uma resina quelante de troca iônica que apresenta alta especificidade para um íon ou grupos de íons. Os suportes híbridos consistem na combinação de componentes orgânicos e inorgânicos (os mais usados são os silicatos). No presente trabalho foi utilizado como componente orgânico o alginato de sódio.

O objetivo deste trabalho foi imobilizar a HRP comercial em diferentes suportes: Amberlite IRA 67, Amberlite IRC 748, Figura 1 e Híbrido de Silicato com Alginato, Figura 2.

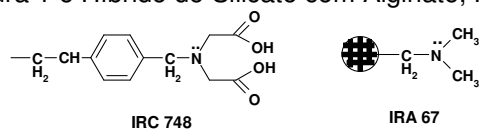


Figura 1. Estrutura química das resinas Amberlite IRC 748 e IRA 67

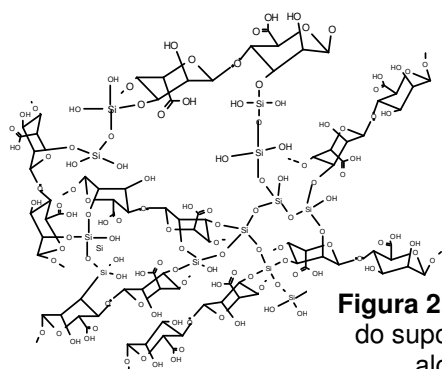


Figura 2. Estrutura química do suporte híbrido sílica-alginato (SAP)

Resultados e Discussão

Para os experimentos, foi pesado 1g dos suportes amberlite IRA 67, amberlite IRC 748 (comerciais) e 1g dos suportes híbridos SAP, SH e Scal, previamente sintetizados. Depois adicionou-se 5 mL da enzima HRP (1mg/mL) e 5 mL de tampão fosfato de sódio (0,1mol/L) pH 7,0. A reação foi agitada num shaker durante 3 horas. Logo após, foram mantidas em refrigeração por 24 horas. Após esse período, ocorreu a filtração e a análise da atividade enzimática para cálculo da eficiência de imobilização (E.I.), tabela 1.

$$\text{Eficiência de imobilização (\%)} = \frac{(U_0 - U_f)}{U_0} \times 100$$

A atividade enzimática de peroxidase de raiz forte (HRP) foi determinada por método colorimétrico, baseado na mudança de absorvância a 470 nm devido à formação do produto de oxidação do guaiacol, o tetraguaiacol durante três minutos (ϵ tetraguaiacol: $26,6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$).

Tabela 1. Eficiência de imobilização da enzima HRP em suportes híbrido SAP, SH e Scal e em amberlites IRA 67 e IRA 748

Suportes	E. I. (%)	Unidades de Enzima no suporte
SAP	64	82
SH	70	85
Scal (após calcinação)	68,4	87
IRA 67	81,3	41
IRC 748	72,1	33

O carregamento de HRP em 1mg/g de suporte foi considerado ótimo para os cinco utilizados. No entanto, os suportes híbridos apresentaram maior unidades de enzima no suporte. Enquanto a unidade de enzimas no suporte foi maior nos híbridos SAP, SH e Scal em relação as amberlites IRA 67 e IRA 748.

Conclusões

Os suporte apresentaram potencial para a utilização em novos processos, como por exemplo, suporte orgânico para imobilização de peroxidase HRP.

Agradecimentos

A UEFS, CNPq, FAPES, FAPETEC/ CAPES pela ajuda financeira.

SASSOLAS, A.; BLUM, L. J.; LECA-BOUVIER, B. D. **Immobilization strategies to develop enzymatic biosensors.** *Biotechnology Advances*, v. 30, p. 489–511, 2012.

XU, R.; CHI, C.; LI, F.;ZHANG, B. **Immobilization of horseradish peroxidase on electrospun microfibrinous membranes for biodegradation and adsorption of bisphenol A.** *Bioresource Technology*, v. 149, p. 111–116, 2013.