

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



Marque a opção do tipo de trabalho que está inscrevendo:

Resumo

Relato de Caso

IMOBILIZAÇÃO DE GLICOAMILASE EM SCAFFOLD DE GELATINA RETICULADO COM GLUTARALDEÍDO

AUTOR PRINCIPAL: Kátia Bitencourt Sartor

CO-AUTORES: Elionio Galvão Frota, Luciane Maria Colla

ORIENTADOR: Jeferson Steffanello Piccin

UNIVERSIDADE: Universidade de Passo Fundo

INTRODUÇÃO:

Enzimas são proteínas que atuam como biocatalizadores reduzindo a energia de ativação das reações químicas. Dentre elas, glicoamilase é utilizada na hidrólise do amido. Devido seu alto valor agregado e instabilidade, uma alternativa para aumentar sua estabilidade e potencializar seu reuso é a imobilização em um suporte inerte como a gelatina. Porém, a reduzida porosidade do suporte gera perda de eficiência da reação.

Os scaffolds, que são estruturas porosas, são um caminho para ampliar a aplicação da gelatina na imobilização de enzimas, mas é necessário reticular o suporte, conferindo maior resistência a sua estrutura. O glutaraldeído é um dos agentes de reticulação mais relatados para essa função, promovendo a formação de ligações internas na molécula de gelatina (FARRIS; SONG; HUANG, 2010).

Assim, o objetivo deste estudo foi avaliar o comportamento da enzima glicoamilase imobilizada em scaffold de gelatina reticulada com glutaraldeído em diferentes condições.

DESENVOLVIMENTO:

Os scaffolds de gelatina foram preparados utilizando a metodologia de formação por gás descrita por Poursamar et al. (2016) com modificações, em que uma solução de gelatina a 20% (m/v) foi preparada em tampão fosfato pH 5,5 a 50 °C e aerada em agitador mecânico tipo turrax a 14.300 rpm.

A incorporação de ar através da agitação mecânica em alta velocidade, para formação de scaffolds de gelatina resulta em suportes porosos e homogêneos, o que

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



propicia a difusão do substrato pelo interior da partícula favorecendo sua interação com as enzimas (POURSAMAR et al.,2016). Após a aeração do suporte, 1 mL de enzima foi adicionado à mistura sob agitação até sua homogeneização; a solução foi aerada, moldada e transferida para freezer (-20 °C) até sua solidificação. As amostras foram então cortadas com 1,5 mm de aresta.

Para que os scaffolds apresentassem melhores propriedades mecânicas e fossem resistentes a fatores ambientais, como mudanças de pH e temperatura, estes foram reticulados, por imersão em solução de glutaraldeído nas concentrações de 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1%, durante 2, 3 e 4 horas. Em seguida, as amostras foram triplamente lavadas com solução tampão e armazenadas a 4 °C.

O glutaraldeído promove a reticulação da gelatina através da formação de base de Schiff com o grupos ϵ -amino das cadeias poliméricas. (FARRIS; SONG; HUANG, 2010). Levando em consideração que a enzima fica retida dentro da matriz polimérica, o agente reticulante pode interagir covalentemente com a cadeia enzimática ligando-a ao suporte.

A atividade enzimática dos imobilizados foi determinada pelo método de Miller (1959) que se baseia na quantificação dos açúcares redutores liberados durante a reação de hidrólise enzimática do amido utilizando o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). Uma unidade (U) de atividade enzimática é definida como a quantidade de enzima necessária para liberar 1 μ mol de açúcares redutores (estimados como glicose) por minuto sob condições padrão de pH e temperatura.

O confinamento da enzima em um suporte sólido é utilizado quando se almeja sua reutilização com manutenção da atividade catalítica (BRENA; GONZÁLEZ-POMBO; BATISTA-VIERA, 2013). Além disso, a ligação de uma enzima ao suporte pode aumentar a sua resistência a alterações ambientais tais como pH e temperatura. No entanto, quando são utilizados agentes reticulantes, estes podem fazer a ligação entre o suporte e a enzima.

Conforme os dados apresentados nas Figuras 1 e 2, as condições mais promissoras para obter uma reticulação eficiente, sem que ocorra a inibição da enzima, são a concentração de 0,25% de glutaraldeído e o tempos de 3 e 4 horas.

O glutaraldeído é o agente de reticulação mais utilizada devido ao seu baixo custo e eficácia em sua função, melhorando as propriedades mecânicas, térmicas (FARRIS; SONG; HUANG, 2010). Esse agente apresenta níveis citotoxicidade, prejudiciais à saúde, mas, utilizado em baixas concentrações, estes níveis são praticamente nulos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS:

Através dos experimentos realizados foi perceptível, que o melhor resultado de atividade enzimática é a concentração de 0,25% de glutaraldeído, no tempo de 3 horas,

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

COMPARTILHANDO E FORTALECENDO
REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



visto que, com o aumento de reticulante há redução da atividade do biocatalizador, pois, o excesso de glutaraldeído possibilita a formação de múltiplas ligações com o suporte, tornando o rígido, propiciando sua inibição.

REFERÊNCIAS:

BRENA, B.; GONZÁLEZ-POMBO, P.; BATISTA-VIERA, F. Immobilization of Enzymes: A Literature Survey. In: GUIBAN, J. M. (Ed.). **Immobilization of Enzymes and Cells**. Totowa, NJ: Humana Press, 2013. v. 1051p. 15–31.

FARRIS, S.; SONG, J.; HUANG, Q. Alternative Reaction Mechanism for the Cross-Linking of Gelatin with Glutaraldehyde. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 998– 1003, 2010.

POURSAMAR, S. A. et al. The effects of crosslinkers on physical, mechanical, and cytotoxic properties of gelatin sponge prepared via in-situ gas foaming method as a tissue engineering scaffold. **Materials Science and Engineering: C**, v. 63, p. 1–9, jun. 2016.

IV SEMANA DO CONHECIMENTO

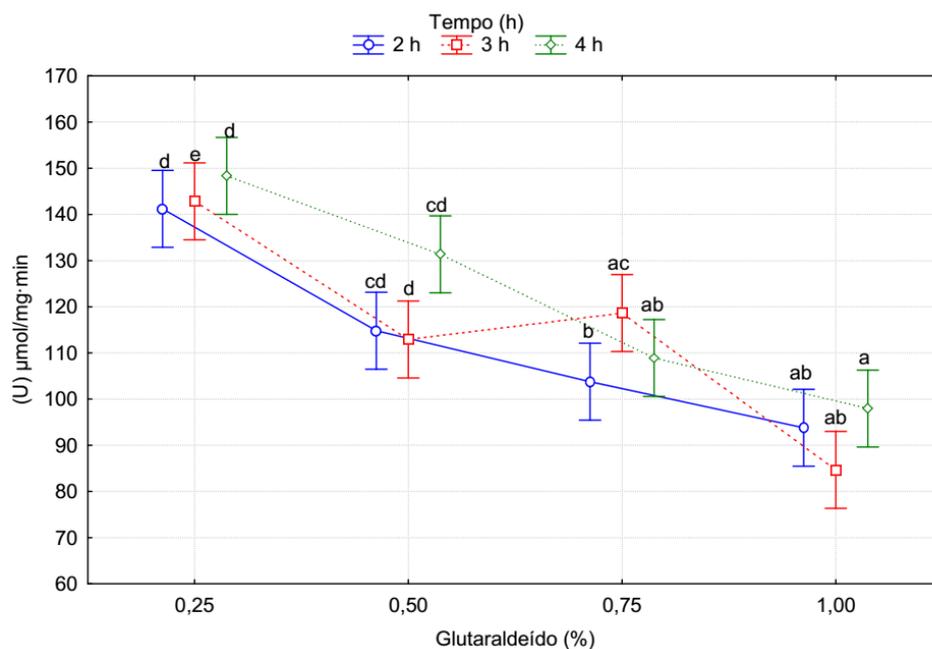
COMPARTILHANDO E FORTALECENDO REDES DE SABERES

6 A 10 DE NOVEMBRO DE 2017



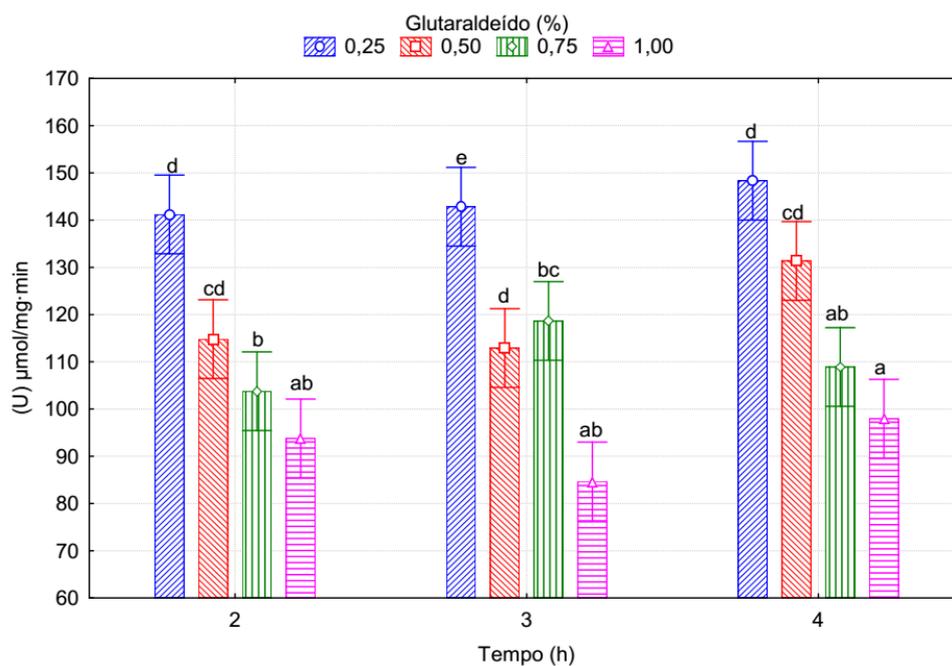
ANEXOS:

Figura 1 Comportamento de glicamilase em diferentes concentrações de glutaraldeído.



Letras iguais significa que não apresentam diferença significativas entre si a nível de 95% de confiança (Média±DP).

Figura 2 Período de reticulação com glutaraldeído em relação à manutenção da atividade enzimática.



Letras iguais significa que não apresentam diferença significativas entre si a nível de 95% de confiança (Média±DP)