



AVALIAÇÃO DE ATIVIDADE E ENCAPSULAMENTO DE ENZIMAS COMERCIAIS (CELULASE, PAPAÍNA E LIPASE) E RECOMBINANTE (BSLIP)

Matheus dos Santos Macedo, André Oliveira de Souza Lima.

Ciências Biológicas e da Saúde
Genética - Genética Molecular e de Microorganismos

A imobilização de enzimas é uma estratégia que pode ser empregada para diferentes fins biotecnológicos. O método é baseado no confinamento de proteínas em uma matriz polimérica, com interações que podem ser físicas ou químicas. Por meio dessa técnica é possível contribuir para a estabilidade térmica e biológica da atividade enzimática. Nesse contexto, a presente pesquisa teve como objetivo avaliar a atividade de diferentes enzimas encapsuladas. Para tanto, foi avaliado uma lipase de *Bacillus stratosphericus* produzida por engenharia em *Escherichia coli*. Assim como, foram investigadas enzimas comerciais (Sigma-Aldrich): celulase de *Aspergillus niger* (~0,8 U/mg), papaína de *Carica papaya* (1 mg/mL) e a lipase de *Candida rugosa* (5mg/mL). Em todos os ensaios, a matriz polimérica utilizada foi o alginato de sódio, junto com a argila bentonita, essa produzindo maior estabilidade para as cápsulas. Inicialmente, as enzimas foram obtidas e preparadas para os ensaios. Em particular, para a produção da lipase recombinante de *B. stratosphericus*, primeiro foi necessário obter a linhagem de *E. coli* transgênica carregando o vetor de expressão com o gene da lipase. Em seguida, o organismo recombinante foi cultivado e a enzima produzida. Por fim, a proteína foi purificada por cromatografia de afinidade e quantificada. Os encapsulados foram testados em substratos (carboximetilcelulose e caseína), posteriormente corados com vermelho do Congo e azul de bromofenol para verificação para liberação enzimática. A liberação foi analisada por meio do software ImageJ (versão 1.53b), que gerou dados sobre o tamanho dos halos nos corantes e a intensidade da cor. O tratamento apresentou o resultado de menor liberação enzimática com as cápsulas junto com bentonita, indicando maior estabilidade e maior grau de retenção enzimática. Posteriormente, realizou-se o teste enzimático com lipase de *C. rugosa* e lipase recombinante de *B. stratosphericus* em diferentes temperaturas. Os ensaios enzimáticos foram conduzidos com diversas diluições de lipase comercial (0,62; 1,25; 2,5; 5 mg/mL) e do substrato para lipases, pNP-palmitato (1,875; 3,75; 7,5; 15 mM) e temperaturas (21°C e 42°C). Em todas as condições testadas verificou-se a atividade lipolítica. Entretanto, ao avaliar a lipase de *B. stratosphericus*, constatou-se atividade consideravelmente inferior em relação à lipase comercial. Dando continuidade, foi avaliado a imobilização enzimática em partículas de menor dimensão. Para tanto, foi testada a lipase de *C. rugosa* adsorvida a bentonita. Dentre os resultados obtidos, inicialmente foi detectada hidrólise do substrato tanto no tratamento com enzima quanto no controle. Posteriormente, foram testadas novas concentrações (1,25; 2,5; 5 mg/mL) da lipase, mas os resultados foram negativos quanto a atividade. A falta de atividade na reação pode estar relacionada ao preparo das enzimas adsorvidas a bentonita, por exemplo na etapa de agitação do mix (enzima e bentonita). Os resultados obtidos, evidenciam a viabilidade da imobilização de enzimas em alginato de sódio.

Palavras-chave: Engenharia genética, imobilização, alginato de sódio.

Programa de Bolsas de Pesquisa do Art. 171 /FUMDES / UNIEDU / Governo de Santa Catarina / UNIVALI