

IMOBILIZAÇÃO DAS ENZIMAS AMILASES SOBRE AS SUPERFÍCIES DAS MICROESFERAS DE SÍLICA RECOBERTA COM ZEÍNA

Jéssica Naiara Dias Ferri

Prof. Dr. Sérgio Akinobu Yoshioka

Prof. Dr. André Luiz Meleiro Porto

Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo

jessica_ferri@usp.br

Objetivos

O presente trabalho tem como objetivo a imobilização de enzimas amilolíticas em suportes sólidos constituídos por nanopartículas de sílica revestidas com zeína. Além disso, propõe-se investigar os materiais empregados, avaliar a técnica de imobilização selecionada e comparar a atividade enzimática na forma livre e na forma imobilizada. Por fim, busca-se manter uma perspectiva sustentável, fundamentada no uso de biopolímeros renováveis, como a zeína, e na potencial redução dos custos operacionais em processos industriais, possibilitada pela reutilização da enzima imobilizada.

Métodos e Procedimentos

O desenvolvimento deste trabalho englobou diversas etapas, desde a extração e caracterização da zeína, a preparação dos suportes sólidos, a ativação desse suporte, e por fim a imobilização e a avaliação da atividade enzimática.

A) Extração da zeína: Realizada a partir de farelo de glúten de milho e milho moído, utilizando solução hidroetanólica (EtOH 80%), seguida de filtração, evaporação do solvente e secagem.

B) Caracterização da Zeína : Determinou-se o teor de proteína (método de Biureto), o número de cargas (diálise e titulação), a massa molecular (SDS-PAGE) e a estrutura polipeptídica (FTIR).

C) Preparação do suporte sólido: Nanopartículas de sílica foram recobertas com zeína via nanoprecipitação, com agitação mecânica associada a ultrassom. A morfologia foi analisada por MEV-FEG e o produto liofilizado.

D) Ativação do suporte sólido: O suporte foi tratado com solução diluída de glutaraldeído, um agente bifuncional de ativação, possibilitando a introdução de grupos aldeído reativos (-CHO) .

E) Imobilização enzimática no suporte: Alfa-amilase foi ligada covalentemente aos grupos ativados do suporte.

F) Avaliação da atividade enzimática: Comparação entre enzima livre e imobilizada usando amido de milho gelatinizado, monitorando a diminuição da viscosidade e pela formação de açúcares redutores quantificados indiretamente por tiras reagentes e leituras em glicosímetro.

Resultados

A) Extração e caracterização da zeína: A extração foi bem-sucedida, obtendo-se produtos comparáveis à zeína comercial. Teores de proteína variaram entre as amostras, e a análise de cargas revelou diferenças significativas: zeína do farelo do glúten (aniônica, 46 cargas) e do milho moído (neutra, 10 cargas). SDS-PAGE indicou massa molecular próxima de 29 kDa e FTIR evidenciou diferenças estruturais entre as amostras.

B) Suporte sólido: O recobrimento da sílica com zeína apresentou inicialmente baixa eficiência, mas a combinação de ultrassom e agitação mecânica otimizou a técnica. O produto foi evidenciado por MEV-FEG, ilustrado na Figura 1.

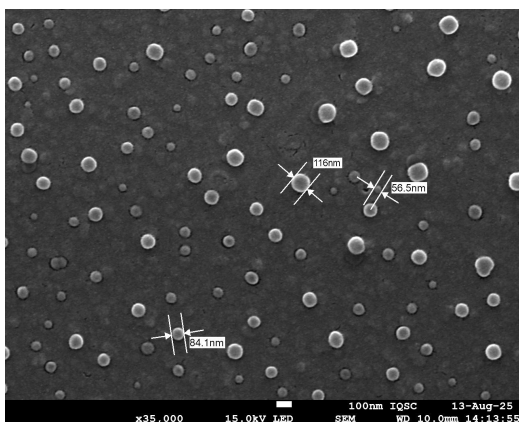


Figura 1: Análise por MEV-FEG do encapsulamento das nanopartículas de sílica com zeína

C) Imobilização e atividade enzimática: A alfa-amilase foi imobilizada com sucesso, formando ligações covalentes com o suporte ativado. Ensaio catalíticos mostraram que a enzima imobilizada manteve atividade comparável ou ligeiramente superior à forma livre, com desempenho estável durante o ensaio, confirmando a eficácia do método e a estabilidade do biocatalisador.

Conclusões

Os resultados obtidos indicam que a proteína do milho (zeína) se mostra um material eficaz para o encapsulamento de nanopartículas de sílica. Esse processo de encapsulamento foi otimizado pela combinação de agitação mecânica e ultrassom, promovendo a formação de partículas uniformes. Além disso, a imobilização pelo o método de ligação covalente mediada por glutaraldeído preservou a atividade catalítica da enzima, garantindo desempenho comparável ao da forma livre. Dessa forma, o método de imobilização aliado aos materiais selecionados revelou-se promissor para a produção de biocatalisadores reutilizáveis, com potencial de aplicação em processos industriais, especialmente na produção de etanol a partir do milho, contribuindo para maior eficiência, redução de custos e sustentabilidade.

Referências

DEFAEI, Mahshid et al. Improvement of stability and reusability of α -amylase immobilized on naringin functionalized magnetic nanoparticles: A robust nanobiocatalyst. *International journal of biological macromolecules*, v. 113, p. 354–360, 2018.

MAFAKHER, Ladan et al. Alpha-amylase immobilization: Methods and challenges. *Pharmaceutical sciences*, v. 29, n. 2, p. 144–155, 2023.

CORRADINI, Elisângela et al. Recent advances in food-packing, pharmaceutical and biomedical applications of zein and zein-based materials. *International journal of molecular sciences*, v. 15, n. 12, p. 22438–22470, 2014.

YOSHIOKA, S.A. Processo de extração etanólica de prolaminas de resíduos dos grãos de cereais em meio etanólico/aquoso ácido ou básico. BR 10 2020 009163 8, protocolado no INPI em 08/05/2020.