



Digestão enzimática para a purificação do P(3HB) de bactérias Gram-positivas

Luca Araujo Frangipani¹, Débora Jung Luvizetto Faccin¹
¹Departamento de Engenharia Química

INTRODUÇÃO

O poli(3-hidroxi-bu-tirato) é um polímero que, apesar de possuir propriedades similares a plásticos convencionais, é biodegradável, biocompatível e pode ser obtido a partir de fontes renováveis. Algumas espécies bacterianas possuem a característica de armazenar este biopolímero em inclusões citoplasmáticas como fonte energética (Figura 1). Este pode então ser obtido para uso a partir de diferentes métodos de purificação (Figura 2). O objetivo do presente trabalho foi buscar uma enzima com potencial de recuperação de P(3HB) a partir da espécie Gram-positiva, *Bacillus megaterium*.

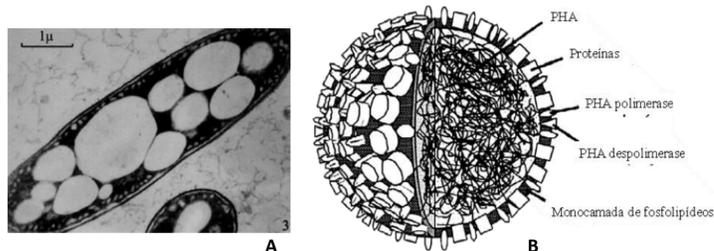


Figura 1. A. Grânulos de PHB intracelular. Microscopia Eletrônica (Nutti et al, 1972). B. Estrutura do granulo de PHA em *B. megaterium* (Zinn et al., 2001).

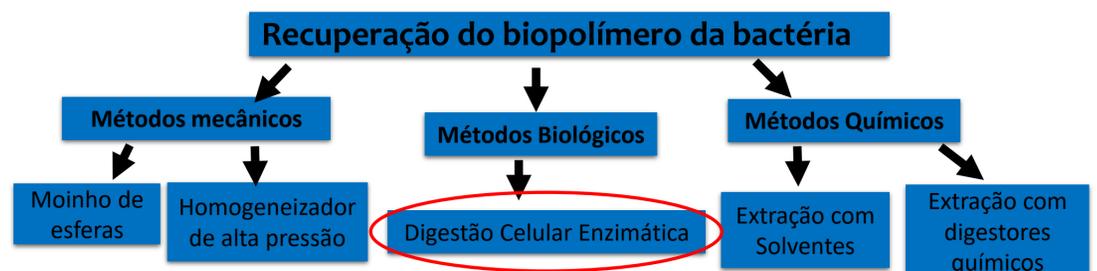


Figura 2. Fluxograma demonstrando as diversas estratégias possíveis para a extração de PHB bacteriano.

METODOLOGIA

Os testes foram realizados com as enzimas Alcalase, Neutrase, Pectinex e Viscozyme. Os experimentos foram conduzidos em contatos enzimáticos de 3, 6, 9 e 12 horas com as células bacterianas e com a concentração enzimática de 5% (massa enzima / massa de células). Todos os testes foram realizados em chapa de aquecimento sob temperatura e pH dentro da faixa determinada a partir de revisão bibliográfica e seguiram as etapas mostradas no fluxograma (Figura 3). A quantificação do PHB das amostras obtidas para cada enzima testada foi realizada por cromatografia gasosa, utilizando-se ácido benzoico como padrão interno³.

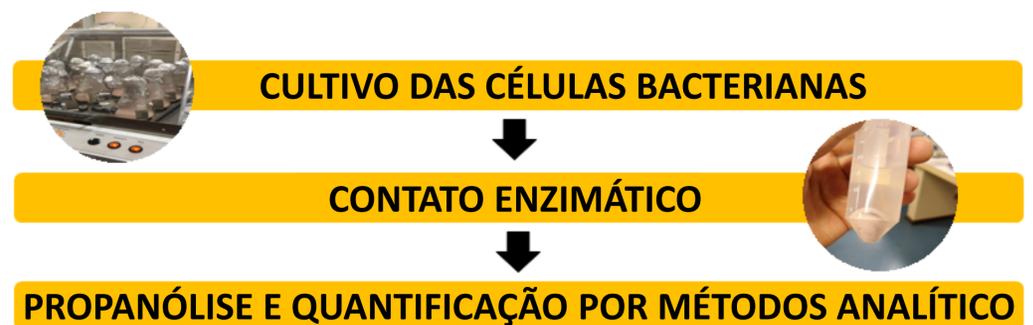


Figura 3. Fluxograma resumindo as etapas do processo experimental.

RESULTADO

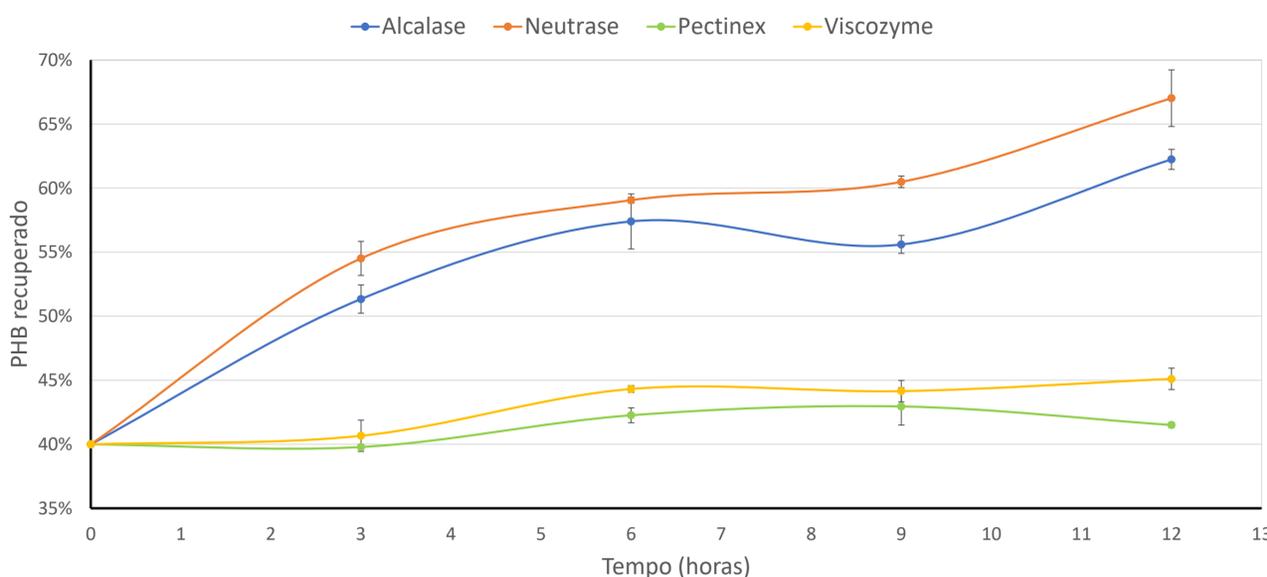


Figura 4. Gráfico comparativo dos resultados da recuperação do P(3HB) para cada uma das enzimas testadas nos intervalos de tempo avaliados.

A porcentagem em massa de PHB para as células de *B. megaterium* utilizadas foi determinada como sendo de $40 \pm 2\%$. Este valor foi utilizado para a determinação do sucesso da extração do biopolímero, como pode ser observado na Figura 4. Atingiu-se uma pureza média de 62,24% para a Alcalase e de 67,02 para a Neutrase, sendo ambos os valores correspondentes ao tempo máximo de contato.

Referências

- Santos, Antonio "From Obtaining to Degradation of PHB: Material Properties. Part I" Ingeniería y Ciencia, v. 13, n. 26, 2017.
- JACQUEL, N. et al. Isolation and purification of bacterial poly(3-hydroxyalkanoates). Biochemical Engineering Journal, v. 39, n. 1, p. 15–27, 2008.
- Riis, V.; MAI, W. Gas chromatographic determination of poly-β-hydroxybutyric acid in microbial biomass after hydrochloric acid. Journal of Chromatography, v. 20, n. 491, p. 285–289, 1988.

Agradecimentos

Agradeço à mestrandia Ethiane Poerschke Bissacot por todo o apoio e colaboração.

CONCLUSÃO

O resultado obtido confere um significativo potencial de recuperação; principalmente para as enzimas Alcalase e Neutrase. Novos testes continuarão a ser realizados, com variações nas faixas de temperatura, pH e também na concentração de enzima nas amostras de forma a determinar os pontos de máxima ação enzimática.