



**Universidade:
presente!**

UFRGS
PROPEAQ



XXXI SIC

21. 25. OUTUBRO • CAMPUS DO VALE

Evento	Salão UFRGS 2019: SIC - XXXI SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	Digestão enzimática para purificação do P(3HB) de bactérias Gram-positivas
Autor	LUCA ARAUJO FRANGIPANI
Orientador	DEBORA JUNG LUVIZETTO FACCIN

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

Luca Araujo Frangipani, Débora Jung Luvizetto Faccin

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

O poli(3-hidroxi-butarato), P(3HB), é um poliéster biodegradável com grande potencial de aplicação como alternativa aos polímeros de origem petroquímica. Esse polímero é sintetizado por bactérias e, então, pode ser extraído do meio intracelular por métodos mecânicos, químicos ou biológicos, sendo que, dentre estes, destaca-se a utilização de solventes orgânicos, pela ampla aplicação. Um dos solventes utilizados para tanto é o clorofórmio, que é nocivo ao meio ambiente, além de ser tóxico. Um dos ramos em potencial de aplicação deste polímero é a medicina e, neste caso, com a utilização de solventes tóxicos para a extração, seriam necessárias etapas adicionais para a purificação do produto final, a fim de garantir que o polímero possa ser aceito pelo organismo sem gerar complicações. Neste contexto, a utilização de enzimas pode surgir como uma alternativa viável para a extração. Atualmente o principal entrave é o custo das enzimas; deste modo, é de grande importância buscar otimizar as condições de reação para então aumentar o rendimento deste processo. O objetivo do presente trabalho foi buscar uma enzima com potencial de extração de PHB para a espécie *Bacillus megaterium*. As enzimas testadas foram as seguintes proteases: Alcalase, Neutraxe, Pectinex, Viscozyme e Saczyme. Primeiramente, massas conhecidas de células bacterianas liofilizadas foram colocadas em solução com cada uma das enzimas testadas em diferentes concentrações. A partir daí, as amostras foram centrifugadas e o precipitado formado (em que se encontra o polímero purificado) foi colocado em estufa, para secagem. Após secas, as amostras passaram pelo processo de propanólise para então injetar a fase mais densa no cromatógrafo gasoso e assim quantificar o polímero em cada amostra. Utilizou-se detector de ionização de chama, nitrogênio como gás de arraste e solução de ácido benzoico como padrão interno. A porcentagem de PHB nas células bacterianas inicialmente é de aproximadamente 40%. Após este procedimento, com enzimas que apresentaram maior potencial, realizou-se experimentos para avaliar a influência do tempo de contato com as células. Os intervalos testados foram de 3, 6, 9 e 12 h de contato para digestão da parede celular e, portanto, para recuperação do biopolímero. A Neutraxe e a Saczyme não apresentaram resultados satisfatórios nos testes iniciais, pois a porcentagem de PHB nas amostras finais não passou de 45%, sendo muito próximo do original. A Pectinex e a Viscozyme, embora tivessem apresentado bons resultados no teste inicial, no segundo conjunto de experimentos, apresentaram resultados não tão satisfatórios, de forma que novos testes continuarão a ser realizados com estas enzimas. A enzima que apresentou os melhores resultados foi a Alcalase, que obteve porcentagens de recuperação de 55%, 59%, 60% e 67% correspondentes, respectivamente, aos tempos de contato de 3, 6, 9 e 12h.