

MORATO, Adriana Elisa Ferreira. Purificação e imobilização de enzimas recombinantes para fins industriais: Lipase B de *Pseudozyma antarctica* como modelo. 85 f. 2014. Dissertação (Mestrado) – Instituto de Ciências da Saúde, Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2014.

RESUMO

Atualmente, a produção de enzimas recombinantes é um dos mercados mais promissores para a biotecnologia. Processos catalisados por enzima são aplicados em diversos processos industriais por apresentarem alta eficiência catalítica, especificidade e seletividade, além do baixo consumo de energia, o que contribui positivamente com o Meio ambiente. A maioria dos biocatalisadores aplicados em processos industriais consiste em enzimas imobilizadas em resinas insolúveis. A imobilização aumenta a atividade catalítica, a estabilidade e também torna possível a aplicação da enzima em meio reacional contínuo assim como, sua reutilização no meio de reação. O interesse em torno do aprimoramento da técnica de imobilização e produção de biocatalisadores enzimáticos tem aumentado nos últimos anos, o que permite indicar o processo de purificação enzimática como o passo mais dispendioso na produção de enzimas. Este trabalho teve como objetivo desenvolver um processo adequado de purificação e imobilização de enzimas recombinantes em passo único, baseados na interação do *his-tag* com resinas específicas, que permita a produção de catalisadores enzimáticos aplicáveis à produção industrial com baixo custo. Para tanto, foram utilizadas três tipos de resinas da série Amberlite, as quais foram avaliadas quanto à sua interação com os íons Ni^{2+} ou Co^{2+} , com proteínas inespecíficas e com a enzima lipase B de *Pseudosyma antarctica* transformada com cauda de hexahistidina. Paralelamente, análises da eficiência catalítica da lipase foram realizadas através da mensuração da atividade hidrolítica por meio de testes de degradação do *pNPP* e concentração da proteína pelo método colorimétrico de Bradford. No presente estudo, foi realizada uma prospecção tecnológica com o intuito de avaliar o desenvolvimento da tecnologia no mundo. Esse estudo indicou a necessidade de pesquisas no Brasil. Entre os suportes testados, a resina Amberlite IRN77 carregada com íons Ni^{2+} e pré-tratada com tampão Tris-HCl (pH 7.0) apresentou dados favoráveis quanto a ligação de íons metálicos e proteína inespecífica, sendo utilizada nas etapas de purificação e imobilização enzimática. A lipase PALB purificada na coluna apresentou uma boa atividade catalítica (522U/g) em meio aquoso, mesmo na presença de compostos desnaturantes. Com isso, um suporte de baixo custo foi empregado para o processo de purificação e imobilização enzimática. Este trabalho é um novo passo para o esclarecimento dos processos envolvidos na técnica de purificação e imobilização de enzimas em passo único, além de contribuir para a pesquisa no país por meio de uma patente que está sendo desenvolvida.

Palavras chave: Purificação, Imobilização, Enzima, Lipase B, passo único.