

IMOBILIZAÇÃO DE PEPSINA EM MEMBRANAS LIOFILIZADAS DE QUITOSANA E CARBOXIMETIL-QUITOSANA

K.G.P.C. MELLO, R. POLAK, M. NAKAGAWA, B.POLAKIEWICZ

Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo – Brazil, karinegar@usp.br

As enzimas são proteínas utilizadas em diversos processos tecnológicos. Sua eficiência depende de controle contínuo de temperatura, pH, agitação, entre outros. Em decorrência disto, a imobilização de enzimas em suportes insolúveis e inertes, vem sendo proposta com resultados promissores de manutenção e até mesmo aumento da atividade enzimática, resistência mecânica, térmica e de pH. Além disso, quando a enzima esta imobilizada em um suporte sua remoção do sistema é facilitada e possibilita sua reutilização. Por causa disto, diferentes tipos de suportes vêm sendo estudados, dentre estes, os materiais poliméricos, como a quitosana, um polímero natural, biocompatível, biodegradável e atóxico. Neste trabalho a enzima pepsina foi imobilizada em membranas liofilizadas de quitosana (Q) e carboximetil-quitosana (CMQ) reticuladas com glutaraldeído.

A 25,0mL de cada soluções 3% de Q e CMQ, foram adicionados 5,0mL de sol. de pepsina 1mg/mL. Após 20 min. de agitação foi adicionado 5,0mL de sol.glutaraldeído 1% seguido de mais 20 min. de agitação. As amostras foram acondicionadas em placas de Petri, congeladas à T=-70°C e depois liofilizadas em equipamento FTS Systems TDS-00209A. Previamente à liofilização as amostras foram analisadas por microscopia ótica acoplada à liofilização (Fig.1) para determinação da temperatura de colapso das soluções, por se tratar de um parâmetro crítico pré-liofilização.

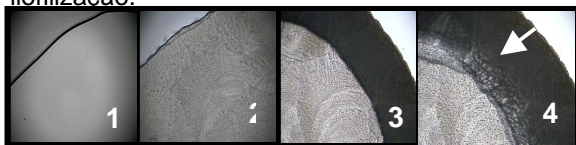


Fig.1- Etapas de liofilização (Lyostat) da Quitosana - (1)Hidrogel, (2) Congelamento, (3) Interface do hidrogel congelado x liofilizado, (4) Colapso da amostra.

Após a liofilização foram obtidos quatro tipos de membranas: Quitosana (MQ), Quitosana+Pepsina+Glutaraldeído (MQ+P+G), carboximetil-quitosana (MCMQ) e carboximetil-quitosana+ Pepsina+

Glutaraldeído (MCMQ+P+G). Após a liofilização as membranas (Fig.2) apresentaram coloração palha e com o passar do tempo as amostras reticuladas tornaram-se amareladas por causa da presença do glutaraldeído na formulação. Todas as amostras apresentaram-se uniformes, aeradas e flexíveis.



Fig. 2 – Membranas de quitosana e carboximetil-quitosana liofilizadas. (1)MQ (2)MCMQ (3)MQ+P+G (4)MCMQ+P+G

A atividade enzimática da pepsina livre e imobilizada nas membranas MQ e MCMQ foi analisada através da hidrólise da Hb. Na Fig. 3, estão representados os resultados obtidos da medida de atividade da pepsina 1,0 mg/mL livre em um intervalo de 10 min. Enquanto a enzima imobilizada nas membranas foi medida nos intervalos de 10,30,60 e 90 min. A amostra de pepsina imobilizada em MQ, apresentou atividade semelhante a enzima livre quando próxima aos 60 minutos de reação. Estes resultados sugerem que as membranas apresentaram boas propriedades físico-químicas para imobilização da pepsina, que a atividade enzimática da pepsina foi preservada após o processo de liofilização e que a quitosana pode ser utilizada como um suporte de imobilização enzimática.

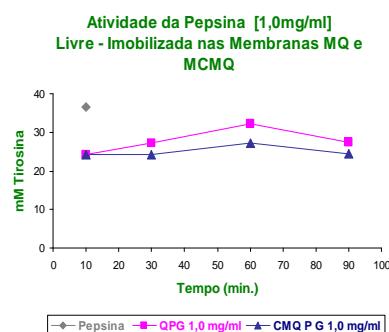


Fig. 3- Perfil de atividade da pepsina 1,0 mg/mL livre e imobilizada nas membranas MQ e MCMQ

AGRADECIMENTOS

A USP e a CAPES pelo auxílio financeiro.

REFERÊNCIAS

1. Abreu, F.R.; Campana Filho, S.P. Carbohydrate Polymers, 75,(2009)214-221.
2. Altun, G.D.; Cetinus, S.A. Food Chemistry, 100, (2007)964-971.

V Simpósio Ibero-americano de Quitina
Sociedade Ibero-americana de Quitina
Marzo, 2010, Santiago, Chile

3. Tattini Jr., V.; Parra, D.F.; Pitombo, R.N.M. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 42,1, (2006)127-136.