

Adsorção e atividade hidrolítica de celulase

Denise Freitas Siqueira Petri (PQ), Iris Raquel Maia Tébéka* (PG)

* escrevapramim@gmail.com

Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Av. Prof. Lineu Prestes, 748 – 05508-900 São Paulo – SP

Palavras Chave: celulose, celulase, atividade hidrolítica

Introdução

A enzima celulase catalisa a hidrólise da celulose à glicose. Este processo bioquímico é essencial a várias etapas do desenvolvimento de vegetais, [1] e também detém uma apreciável importância econômica pois precede a etapa da fermentação na produção de etanol a partir de fontes renováveis. [2]

A sacarificação da celulose é uma alternativa para gerenciar resíduos de biomassa, como bagaço de cana-de-açúcar e rejeitos decorrentes de atividades florestais. [3]

O uso da enzima livre requer quantidades elevadas da mesma. O reaproveitamento não é possível visto que a celulase é completamente solúvel em meio aquoso, no qual é conduzida a hidrólise.

Neste trabalho, estudou-se a adsorção de celulase sobre placas de silício (Si/SiO_2) por meio de elipsometria e microscopia de força atômica. As atividades catalíticas da celulase imobilizada e livre, em quantidades equivalentes, foram comparadas.

Resultados e Discussão

A adsorção da celulase é realizada através da imersão das placas de Si/SiO_2 em solução da enzima por aproximadamente 24 horas. Determinaram-se as isotermas de adsorção da celulase por meio de elipsometria *in situ* em pH6 a 25°C. A quantidade de material adsorvido aumenta com a concentração da enzima até o patamar de $3,4 \pm 0,3 \text{ mg/m}^2$ em 0,01 g/L. As placas contendo celulase imobilizada são imersas em solução de celulose e a formação de nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) é medida indiretamente por espectrofotometria em 340 nm. [4]

A eficiência do processo varia conforme o tempo de interação entre a enzima imobilizada e a celulose, e com a quantidade de celulase. Para um período de interação de 24 horas a 37°C e cerca de $2 \cdot 10^{-2} \text{ mg}$ de enzima imobilizada, detectou-se formação de NADPH na concentração de 0,01 mol/L. Este resultado indica que o resíduo do sítio ativo (tirosina Y13) de moléculas de celulase imobilizada fica exposto para o meio. [5]

Para comparação, ensaios de atividade enzimática foram realizados utilizando-se a celulase livre em solução aquosa, em concentração equivalente à quantidade de enzima imobilizada. Sob mesmas

condições experimentais, a enzima livre mostrou-se inativa.

Análises de microscopia de força atômica revelaram o denso empacotamento das moléculas de celulase sobre placas de Si/SiO_2 . (Figura 1)

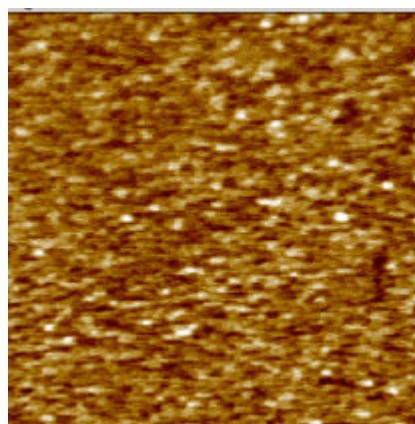


Figura 1. Imagem topográfica de AFM obtida em modo de contato intermitente para celulase imobilizada sobre Si/SiO_2 ; imagem de $1,3 \mu\text{m} \times 1,3 \mu\text{m}$. ($Z=2 \text{ nm}$)

Conclusões

A imobilização de celulase sobre Si/SiO_2 se mostrou bastante vantajosa, pois permitiu o uso da enzima em pequenas quantidades para produção de glicose através da hidrólise de celulose, enquanto a enzima livre usada em quantidade equivalente mostrou-se inativa.

Agradecimentos

As autoras agradecem ao CNPq pelo apoio financeiro.

¹ Coleman, D. J.; Studler, M. J.; Naleway, J. J. *Anal. Biochem.* **2007**, 371, 146.

² Romani, A.; Yáñez, R.; Garrote, G.; Alonso, J. L.; Parajó, J. C. *Biochem. Eng. Journ.* **2007**, 37, 319

³ Martins, L. F.; Kolling, D.; Camassola, M.; Dillon, A. J. P. e Ramos, L. P. *Biores. Tecnol.* **2008**, 99, 1417.

⁴ Castro, L. B. R.; Silva, F. F.; Carmona-ribeiro, A. M.; Kappl, M.; Petri, D. F. S. *J. Phys. Chem. B.* **2007**, 111, 8520

⁵ Nimlos, M. R.; Mathews, J. F.; Crowley, M. F.; Walker, R.C.; Chukkapalli, G.; Brady, J. W.; Adney, W.S., Cleary, J.M.; Zhong, L.; Himmel, M.E. *Prot. Eng. Des. Selection* 2007, **20**, 179.