

Imobilização de lipase de *Aspergillus Níger* pelo método da ligação covalente na superfície de sílica gel quimicamente modificada.

¹Luiza N. H. Arakaki* (PQ), ²Tomaz Arakaki (PQ), ¹André Leonardo P. Silva (IC), ¹Vera Lúcia S. Augusto Filha (PG), ¹Maria G. da Fonseca, ¹José Geraldo de P. Espínola (PQ)

* e-mail: Luiza_arakaki@yahoo.com.br

¹Departamento de Química, CCEN, Universidade Federal da Paraíba, Cidade Universitária - João Pessoa - PB

²Departamento de Tecnologia Química e de Alimentos, CT, Universidade Federal da Paraíba João Pessoa-PB

Palavras Chave: Sílica gel, imobilização, lipase, ligação covalente.

Introdução

Lipases (triglicerol acil-hidrolases E.C. 3.1.1.3) são enzimas que atuam sobre ligações éster de acilgliceróis, liberando ácidos graxos e glicerol, mas também podem catalisar a reação inversa (síntese de éster). As lipases imobilizadas são preparações enzimáticas mais estáveis que envolvem a ligação entre a enzima e um suporte, no qual pode ocorrer a retenção da atividade biológica da enzima. Nesse trabalho, utilizou-se uma superfície de sílica gel quimicamente modificada com cloreto cianúrico para imobilizar covalentemente a lipase de *Aspergillus Níger*, no intuito de investigar o potencial catalítico do sistema imobilizado mediante reação de hidrólise do p-nitrofenilpalmitato.

Resultados e Discussão

15 g de uma superfície de sílica aminopropil (1,3 mmg⁻¹) foi quimicamente modificada com 2 g de cloreto cianúrico, por 12h a 12-16 °C, resultando na superfície chamada Sil-NHCC. Os resultados da análise elementar mostraram 2,2 mmolg⁻¹ do agente ativador imobilizado, como mostra a Tabela 1.

Tabela 1. Análise elementar de carbono e nitrogênio da superfície Sil-NHCC.

Support	C(mmol/g)	N(mmol/g)	Cal. C/N	Exp. C/N
Sil-NH2	4,3	1,3	4,0	3,3
Sil-NHCC	5,6	2,5	2,2	2,2

Esses resultados concordam com um processo de dissubstituição nucleofílica, conforme Blotny¹, disponibilizando apenas um átomo de cloro do anel triazínico para se ligar covalentemente ao grupo amino terminal da cadeia lateral da enzima lipolítica. Os ensaios de imobilização da lipase consistiram no contato de uma solução enzimática (1mg mL⁻¹) em tampão fosfato pH 8,0 com 50 mg da superfície Sil-NHCC por tempos variados (1h, 3h, 6h, 9h, 12h) em

condições ambiente (~31°C). Foi avaliada a atividade da enzima livre e imobilizada de acordo com o método de Winkler e Stuckmann². Os resultados dos ensaios de imobilização foram expressos em termos da atividade hidrolítica da lipase. Uma unidade de atividade enzimática foi definida como 1 mmol min⁻¹ de p-nitrofenol liberado enzimaticamente do substrato (p-NPP), nas condições dos ensaios (pH 8,0 a 37°C). As atividades hidrolíticas das lipases imobilizadas estão dispostas na Tabela 2. Os resultados mostram um ótimo rendimento de imobilização (77, 0%)

Tabela 2. Atividade hidrolítica e rendimento de imobilização (η%) da lipase de *Aspergillus niger* na superfície Sil-NHCC.

Catalisador	Atividade hidrolítica (U g ⁻¹)	Rendimento de imobilização (η%)
Lipase livre	388,0	-
Lipase imobilizada	255,1(1h); 260,3(3h); 275,7(6h); 290,4(9h); 361,6(12h)	54,3(1h); 55,4(3h); 58,7(6h); 61,8(9h); 77,0(12h)

Unidades de atividade disponíveis no processo de imobilização U = 469,6 U g⁻¹ enzima.

Conclusões

A Sil-NHCC apresentou capacidade de se ligar quimicamente a enzima lipolítica devido à interação entre o anel triazínico ancorado na superfície e os grupos amino da lipase, resultando num derivado enzimático imobilizado com considerável atividade catalítica e com potencial para catalisar reações orgânicas.

Agradecimentos

CNPq, CAPES, UFPB.

¹ Blotny, G., *Tetrahedron*, 2006, 62, 9508.

² Winkler, U. K.; Stuckmann, M. J. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1978**, 108, 3335.