

IMOBILIZAÇÃO DE PEROXIDASE DE RAIZ FORTE EM SILICA NANOPOROSA COM POROSIDADE HIERARQUIZADA

Elayne Valério Carvalho(IC)¹, Adonay Rodrigues Loiola(PQ)¹, Lindomar Roberto Damasceno da Silva(PQ)¹.

¹ Laboratório de Físico-Química de Minerais e Catálise, Universidade Federal do Ceará, Departamento de Química Orgânica e Inorgânica, C.P 6002, Campus do Pici, 60455-760, Fortaleza, Ceará, Brasil.

Palavras Chave: Porosidade, Imobilização, Enzimas.

Introdução

Materiais com porosidade hierarquizada incorporam três tipos de porosidade (micro-, meso- e macro), organizados de forma integrada, com as paredes dos macroporos sendo preenchidas com poros de diâmetro médio de 8 nm (mesoporos), que se caracterizam por apresentar uma estrutura cristalina uniforme do tipo cúbica, classe Fm3m, a qual consiste de mesoporos organizados em um arranjo cúbico de face centrada. As paredes destes mesoporos, por sua vez, apresentam poros em microescala. Estas propriedades proporcionam a este tipo de material a possibilidade de vir a ser utilizado como suporte para imobilização enzimática. Apesar de serem excelentes biocatalizadores, as enzimas, em sua forma livre, não resistem a condições extremas de temperatura e pH. Contudo, o uso de materiais porosos nanoestruturados como suportes no processo de imobilização enzimática tem mostrado resultados satisfatórios. O presente trabalho tem como objetivo preparar um biocatalisador a partir da imobilização da enzima peroxidase (1.11.1.7.) extraída de raiz forte (HRP) em um silicato hierarquicamente estruturado (MHE) e avaliar seu desempenho na conversão de catecol em 1,2-benzoquinolina, através de análises por injeção em fluxo (FI).

Resultados e Discussão

A solução enzimática inicialmente preparada apresentou atividade de 0,0195 U/mL de solução enzimática (U equivale à produção de 1,0 mg de 1,2-benzoquinolina a partir do catecol em 20 s de reação em pH 6,00 e a 20°C). A soma das atividades do sobrenadante após o processo de imobilização e do sobrenadante após as lavagens foi de 0,0116 U/mL de solução enzimática. Deste modo, a quantidade de atividade foi de 0,0078 U/ml de solução enzimática utilizada, que corresponde a 40 % de toda a atividade enzimática empregada.

Os resultados dos testes de conversão do catecol à 1,2-benzoquinolina, feitos por meio de análise de injeção em fluxo e em triplicata para cada concentração, são mostrados na Figura 1. É possível observar um comportamento que segue uma tendência linear.

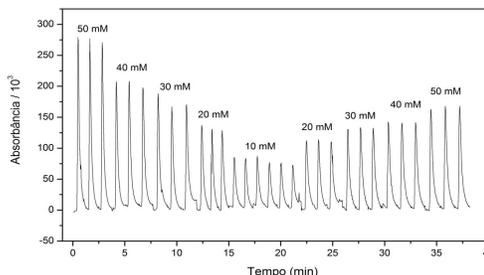


Figura 1. Análise de injeção em fluxo do catecol.

A partir do gráfico dos duplos recíprocos (Figura 2), determinou-se uma velocidade máxima ($V_{máx.}$) de 43, 25 $\mu\text{mol}\cdot\text{min}^{-1}$ correspondendo a um valor de $|K_m| = 21,74$ mM. Diante dos valores obtidos, observou-se uma forte dependência da difusão do substrato dentro da estrutura de poros do material, dificultando seu acesso ao sítio enzimático.

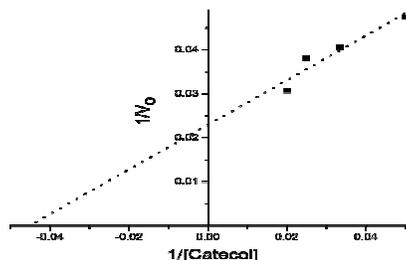


Figura 2. Gráficos dos duplos recíprocos.

Conclusões

O biocatalisador preparado a partir da imobilização da enzima HRP em um silicato de estrutura hierarquizada (MHE) apresentou um desempenho satisfatório na conversão de catecol em 1,2-benzoquinolina, através de análises de injeção de fluxo (FIA) contínuo de substrato no reator.

Referências Bibliográficas

- LOIOLA, A. R.; DA SILVA, L. R. D.; ANDERSON, M. W. Synthesis and characterization of hierarchical porous materials incorporating a cubic mesoporous phase. *J. Mater. Chem.*, v. 18, p. 4985-4993. 2008.
- KIM, K. J.; PARK, J. K.; KIM, H. K. Synthesis and characterization of nanoporous silica support for enzyme immobilization. *Colloid Surface A*, v. 241, p. 113-117. 2004.

Agradecimentos

UFC, CNPq, LaFQMInC.