

Relação estrutura x atividade da enzima Lecitase ultra sob irradiação de ultra-som

Karen M. Gonçalves* (PG)^{1,2}, Yraima Cordeiro (PQ)², Ivana C. R. Leal (PQ)¹ e Rodrigo O. M. A. de Souza (PQ)¹. karen.goncalves@yahoo.com.br

¹ Biocatalysis and Organic Synthesis Group, CT Bloco A, UFRJ, Ilha do Fundão, RJ, Brasil.

² Faculdade de Farmácia, UFRJ, Cidade Universitária, CCS, Bloco B-SS, RJ, Brasil

Palavras Chave: ultra-som, fosfolipase, dicroísmo circular

Introdução

A Lecitase® ultra é uma enzima comercial geneticamente modificada obtida da fusão de genes da lipase de *Thermomyces lanuginosa* e da fosfolipase A1 de *Fusarium oxysporum*¹. Esta enzima é aplicada industrialmente na degomagem de óleos, reduzindo as perdas de óleo em 2% se comparada aos processos tradicionais, o que significa um aumento no rendimento de, aproximadamente, 500 toneladas por dia.

Contudo, estudos recentes demonstram sua aplicabilidade em química fina para a resolução de misturas racêmicas e na hidrólise regioseletiva de carboidratos acetilados, abrindo uma nova área de estudo com inúmeras possibilidades de aplicação².

Como a irradiação por ultra-som em reações químicas reduz as limitações com transferência de massa (efeito cavitacional)³, proporcionando menos tempo e melhores rendimentos, este trabalho tem por objetivo avaliar mudanças estruturais e de atividade da Lecitase ultra sob irradiação por ultra-som.

Resultados e Discussão

A atividade hidrolítica da enzima aumentou 7 vezes em apenas 15 minutos de irradiação por ultra-som, entretanto nos minutos seguintes até completar uma hora, houve queda significativa da atividade. Tal fato pode ser explicado por possíveis alterações na estrutura terciária da enzima e perturbações em regiões com resíduos tirosina e triptofano⁴ (figura 1).

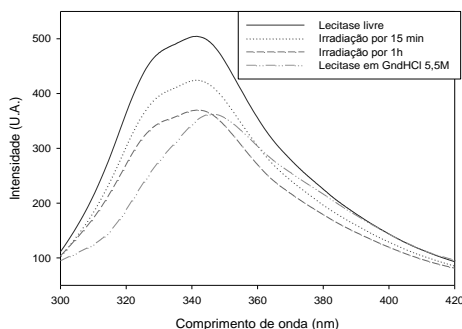


Figura 1. Efeito da irradiação por ultra-som no espectro de fluorescência da Lecitase ultra. (100µg/ml em tampão fosfato pH 7.0. Excitação: 280nm; emissão: 300-420nm).

33ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Química

Os dados de fluorescência mostram que não houve deslocamento do centro de massa, então não há alteração na exposição ao meio dos resíduos. Contudo, a irradiação causou supressão da fluorescência, mais visível quando exposta à irradiação por 1 hora, indicando mudanças nas interações intramoleculares.

Em relação à estrutura secundária, observada por dicroísmo circular (DC) (figura 2), 15 minutos de irradiação causaram perda de 9%, enquanto esta foi de 21% para 30 minutos e 1 hora.

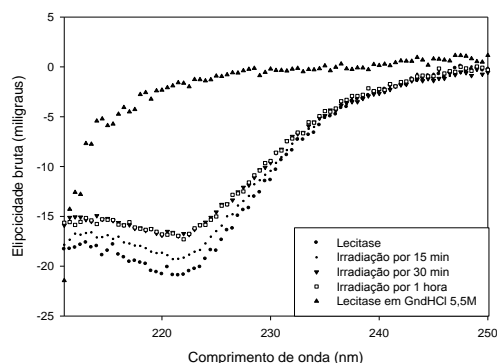


Figura 2. Gráficos de DC da enzima sob diferentes tempos de irradiação por ultra-som.

Conclusões

A irradiação por ultra-som causa alterações estruturais na enzima, sendo que no tratamento por 15min, alterações na estrutura terciária estão associadas a um aumento significativo da atividade hidrolítica. Após 30 minutos, estas mudanças podem comprometer o sítio ativo. Não foram observadas alterações na estabilidade térmica da enzima submetida à irradiação.

Agradecimentos

À CAPES, CNPq, FAPERJ pelo apoio financeiro.

¹ BOJSEN K., SVENDSEN A., FUGLSANG C.C., PATEAR S., BORCH K., VIND J., PETRI A.G., GLADD S.S., BUDOLFSEN G. SCHRODER 2000, PCT Internacional application WO2000/32758

² FERNANDEZ-LORENTE G., FILICE M., TERRENI M., GUI SAN J. M., FERNANDEZ-LAFUENTE R., PALOMO J. M., *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* 2008, 51, 110.

³ LIU, Y., JIN, Q., SHAN, L., LIU Y., SHEN, W. E WANG, X., *Ultrasonics Sonochemistry* 2008, 15, 402.

⁴ SHAH, S. E GUPTA M. N. 2008, *Chemistry Central Journal*, 2:1