

Atividade enzimática de *Burkholderia Cepacia* Lipase imobilizada em sílica mesoporosa funcionalizada.

André L. P. Silva (IC)*, Érika M. G. de Melo (IC), Maria G. da Fonseca (PQ), Luiza N. H. Arakaki (PQ), Tomaz Arakaki (PQ).

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

Universidade Federal da Paraíba

Cidade Universitária - João Pessoa - PB - Brasil - CEP - 58059-900

Palavras Chave: Sílica mesoporosa, imobilização, *Burkholderia Cepacia* Lipase.

Introdução

A imobilização de enzimas em um suporte sólido, além de melhorar a estabilidade, facilita a separação e recuperação da enzima adsorvida, sem que haja perda significativa de sua atividade biológica e seletividade. Nesse sentido, o presente trabalho consistiu em imobilizar a lipase PS de *Burkholderia Cepacia* (BCL) em sílica mesoporosa funcionalizada com propilglicidoxitrimetoxisilano e piperazina, respectivamente. Além disso, foi investigado o potencial catalítico da enzima imobilizada frente a reações de hidrólise do éster palmitato de p-nitrofenila (p-NPP), conforme o método de Winkler¹.

Resultados e Discussão

Materiais mesoporosos possibilitam maior incorporação das moléculas das enzimas devido à compatibilidade de tamanho com os mesoporos do suporte, oferecendo, assim, um ambiente protegido que pode favorecer a acessibilidade dos substratos ao sítio ativo das enzimas². O material suporte foi caracterizado por DRX (Fig. 1) que mostra a formação de um pico em aproximadamente 1,5°, sugerindo uma simetria local hexagonal típica de sólidos mesoporosos tipo HMS.

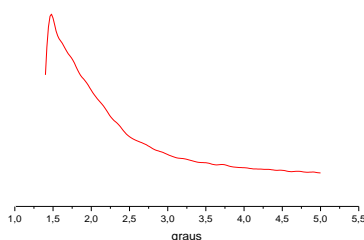


Figura 1. Difratometria de Raio-X do material sem o tensoativo.

Os ensaios de adsorção da lipase BCL no material mesoporoso funcionalizado estão representados pela Fig. 2. Na faixa de tempo estudada, em quatro horas de reação foi obtida a maior carga de enzima imobilizada por grama do sólido, correspondendo numa rápida adsorção da BCL no interior dos poros da sílica. Não obstante, em maiores tempos de contato observou-se uma tendência de diminuição

da concentração de proteína, que pode ser devida aos efeitos de dessorção de enzimas que estão fracamente ligadas ao suporte por interação de Van der Waals.

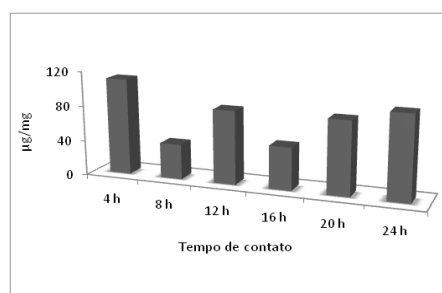


Figura 2. Adsorção de *Burkholderia Cepacia* lipase em sílica mesoporosa funcionalizada.

A Tab. 1 apresenta os dados obtidos nos ensaios catalíticos de hidrólise p-NPP. Os resultados demonstram que a atividade da BCL adsorvida foi fortemente dependente da concentração da enzima. No caso da Sil-BCL4, os efeitos de dessorção provavelmente diminuiriam a concentração efetiva de BCL imobilizada e cataliticamente ativa, o que explica sua menor atividade frente ao substrato.

Tabela 1. Atividade enzimática de BCL imobilizada em sílica mesoporosa (Sil).

lipase imobilizada	Sil-BCL4	Sil-BCL8	Sil-BCL12	Sil-BCL16	Sil-BCL20	Sil-BCL24
*Enz/sup µg/mg	110,4	40,0	84,0	48,8	84,0	96,4
**Atividade µg/min pNP	1,49	1,50	1,69	1,60	1,72	1,85

*proteína imobilizada por grama do suporte.

**Atividade = 1 µmol/min de p-NP liberado enzimaticamente.

Conclusões

O suporte mesoporoso obtido demonstrou alta afinidade pela enzima BCL, resultando em derivados enzimáticos imobilizados cataliticamente ativos frente às reações de hidrólise do p-NPP.

Agradecimentos

UFPB, CNPq, CAPES

¹ Winkler, U. K.; Stuckmann, M. *Journal of Bacteriology*. **1979**, *138*, 664.

² Hudson, S.; Cooney, J. e Magner, E. *Ang. Chem. Int.* **2008**, *47*, 8584.