

## Adsorção e atividade hidrolítica de *Burkholderia Cepacia* Lipase imobilizada em sílica gel organofuncionalizada.

Raquel G. do Nascimento (IC)\*, André L. P. Silva (IC), Maria Gardênia da Fonseca (PQ), Luiza N. H. Arakaki (PQ), José Geraldo de P. Espínola (PQ), Tomaz Arakaki (PQ).

\*e-mail: gn.raquel@hotmail.com

Universidade Federal da Paraíba

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

Palavras Chave: Sílica gel, funcionalização, adsorção, lipase.

### Introdução

A adsorção de enzimas lipolíticas em suportes funcionalizados tem sido utilizada como um método de imobilização que permite a formação de sistemas enzimáticos mais estáveis<sup>1</sup>, os quais podem ser recuperados e reutilizados em novos ciclos reacionais. No presente trabalho, a lipase de *Burkholderia Cepacia* foi imobilizada em sílica gel quimicamente modificada. As lipases imobilizadas foram aplicadas em reações de hidrólise do éster palmitato de p-nitrofenila (p-NPP), formando como produto o p-nitrofenol, p-NP. Nesses ensaios, foram avaliados os efeitos da cinética de imobilização sobre a retenção da atividade enzimática e sobre o potencial de recuperação e reaproveitamento desses sistemas em novos ciclos reacionais.

### Resultados e Discussão

Nos ensaios de adsorção, a lipase foi imobilizada em diferentes tempos de contato. Como mostra a Fig. 1, os sistemas apresentaram alta carga de proteína adsorvida, sendo que o tempo de 24 h apresentou maior eficiência de imobilização. Todas as preparações enzimáticas foram submetidas aos ensaios de hidrólise do p-NPP, conforme o método de Winkler e Stuckmann<sup>2</sup>. Em todos os ensaios catalíticos observou-se a formação do p-nitrofenol, que foi determinado espectrofotometricamente com medidas de absorbância em 410 nm. Os resultados da atividade enzimática (Tab. 1) demonstraram que a atividade foi dependente da quantidade de proteína imobilizada, e isto está associado à maior retenção de lipases com sítios ativos disponíveis ao substrato p-NPP. Os testes de estabilidade operacional foram realizados nas mesmas condições dos ensaios catalíticos e mostraram que após cinco ciclos reacionais foi possível manter a atividade enzimática superior a **50%** para os sistemas imobilizados, com maior eficiência para o tempo de 24 h, como pode ser visto na Tabela 1.

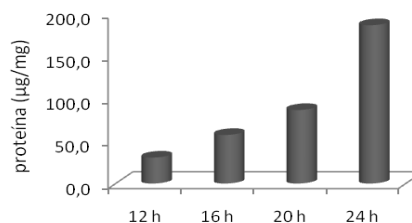


Figura 1. Cinética de imobilização de lipase.

Tabela 1. Ensaios de atividade enzimática.

Sistema imobilizado	enz/sup (µg/mg)	*Atividade (µmol min <sup>-1</sup> )	**η%
Sist. 12 h	30,7	1,28	50,1
Sist. 16 h	57,6	1,35	55,6
Sist. 20 h	86,6	1,42	60,2
Sist. 24 h	180,7	1,53	85,5

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

\*\* Eficiência de retenção da atividade catalítica após cinco ciclos reacionais.

### Conclusões

Os resultados obtidos demonstraram a efetividade da interação entre a superfície funcionalizada reativa do suporte e os grupos funcionais das cadeias laterais das enzimas. As lipases imobilizadas, além de se mostrarem efetivas nas reações de hidrólise do p-NPP, mostraram também potencial de recuperação e reutilização em novos ciclos catalíticos nas condições dos ensaios.

### Agradecimentos

UFPB, CNPq e CAPES.

<sup>1</sup> Villeneuve, P.; Muderhawa, J. M.; Graille, J. e Haas, M. J. *J of Mol. Catalysis B: Enzymatic*. **2000**, *9*, 117.

<sup>2</sup> Winkler, U. K.; Stuckmann, M. *Journal of Bacteriology*. **1979**, *138*, 664.