

Imobilização de Álcool desidrogenase de *Pseudomonas cepacia* em nanopartículas magnéticas

Caterina G. C. M. Netto (PG)¹, Leandro H. Andrade (PQ)², Marcelo Nakamura (TC)¹, Henrique E. Toma(PQ)¹

1-Laboratório de Química Supramolecular e Nanotecnologia, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil

2- Laboratório de Química Fina e Biotecnologia, Instituto de Química, Universidade de São Paulo, Brasil

Palavras Chave: Nanopartículas magnéticas, imobilização, desidrogenases

Introdução

Álcool desidrogenases (ADH) são enzimas que facilitam a interconversão entre alcoóis, aldeídos e cetonas, através da redução de NAD⁺ para NADH. A ADH de *Pseudomonas cepacia* é uma enzima muito instável em solução, permanecendo ativa por apenas 90 minutos; além disso, abaixo da concentração de 1mg/mL a enzima se desfaz em suas quatro sub-unidades.

Estas características tornam inviável o uso da Álcool desidrogenase de *P. cepacia* na sua forma livre em biocatálise. Surge assim, a necessidade de oferecer uma maior estabilidade às enzimas e a imobilização de enzimas é um método muito conhecido para este fim.

Dentre os suportes estão as nanopartículas magnéticas, que apresentam elevada área superficial, alta taxa de transferência de massa e são facilmente recuperadas com o auxílio de um ímã.

No presente estudo, estudou-se a imobilização da ADH de *Pseudomonas cepacia* na superfície de nanopartículas magnéticas por três diferentes métodos e comparou-se com a enzima livre.

Resultados e Discussão

Os métodos de imobilização utilizaram três tipos de nanopartículas magnéticas, com variações nos seus recobrimentos (MagNP-APTS e MagNP@SiO₂-APTS), utilizando glutaraldeído como ligante entre partícula e enzima. O terceiro método se baseou no fato da agarose poder manter a estrutura terciária da enzima mais rígida, portanto utilizou-se uma modificação da agarose para o acoplamento com as MagNP-APTS e com a ADH.

Como exemplo da diferença entre os sistemas, na figura 2 está a reciclagem obtida para cada um dos sistemas imobilizados. O sistema MagNP-APTS/ADH possui elevada atividade apenas nas duas primeiras reações, quando então, a atividade inicia a sua queda para níveis em torno de 40% de conversão. O sistema MagNP@SiO₂-APTS/ADH apresenta uma conversão em torno de 90% estável ao longo das reações. Pode-se utilizá-la por até 10 vezes sem que se observasse uma queda na conversão catalítica.

O sistema MagNP-APTS-agarose/ADH apresenta elevada conversão e estabilidade, sendo o melhor dentre os três métodos de imobilização, quanto à estabilidade enzimática.

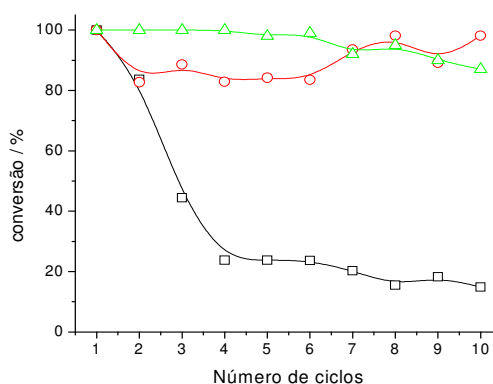


Figura 2. Reciclabilidade dos sistemas imobilizados.

Verificou-se que após a imobilização, a ADH de *Pseudomonas cepacia* permanecia ativa por até 7 horas para a MagNP-APTS e para a MagNP-APTS-Agarose, enquanto para a MagNP@SiO₂-APTS a ADH pôde ser utilizada por até 1 semana.

Conclusões

A álcool desidrogenase de *Pseudomonas cepacia* foi imobilizada em três tipos diferentes de suportes magnéticos. Os resultados obtidos indicam que a estabilidade de uma enzima imobilizada depende muito do método de imobilização e que é possível melhorar a estabilidade e a atividade enzimática por um método simples e barato, para que as enzimas possam ser utilizadas em métodos biocatalíticos em indústrias.

Agradecimentos

FAPESP, CNPq, IQ-USP

¹ Tong, Xiao-Dong Xue, Bo e Sun Yan, *Biotechnol. Prog.*, 2001, 17, 134-139.