



<b>Evento</b>	Salão UFRGS 2018: SIC - XXX SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFRGS
<b>Ano</b>	2018
<b>Local</b>	Campus do Vale - UFRGS
<b>Título</b>	Imobilização de lipase em suportes magnéticos e porosos à base de sílica
<b>Autor</b>	RAFAELA CARVALHO DE ANDRADE
<b>Orientador</b>	EDILSON VALMIR BENVENUTTI

## Imobilização de lipase em suportes magnéticos e porosos à base de sílica

Rafaela de Andrade, Edilson Valmir Benvenuti  
Instituto de Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul/RS

As lipases fazem parte da família de enzimas que agem nas ligações de ésteres carboxílicos. Essas enzimas são biocatalisadores versáteis, atuando em diversas reações químicas, como hidrólises e esterificações. Atualmente, recuperação e reuso são desafios encontrados no uso de biocatalisadores, por isso suportes magnéticos são uma alternativa para tornar biocatalisadores contendo enzimas facilmente recuperáveis. Neste trabalho, dois novos materiais à base de sílica – MX e HpMX, sintetizados e caracterizados previamente – foram utilizados na imobilização da *Candida antarctica* Lipase B (CalB) e *Thermomyces lanuginosus* Lipase (TLL). MX e HpMX são magnéticos (devido à presença de partículas de magnetita), sendo o primeiro um material não-hidrofóbico com apreciável área superficial ( $143 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ) e o segundo, um material hidrofóbico com menor área de superfície ( $61 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$ ). Esses materiais tiveram as atividades enzimáticas medidas e a possibilidade de reuso analisada, bem como parâmetros de tempo de imobilização e saturação do suporte foram otimizados.

Para a imobilização da lipase, suspensões de enzima diluídas com tampão fosfato ( $0,098 \text{ U mL}^{-1}$  para TLL e  $0,123 \text{ U mL}^{-1}$  para CalB) foram postas em contato com 5 mg dos materiais durante 12 h sob agitação mecânica moderada, após os materiais foram lavados três vezes com tampão. Para os ensaios de atividade enzimática, a reação de hidrólise de *p*-nitrofenilpalmitato foi utilizada, pois a liberação do produto (*p*-nitrofenol) pode ser acompanhada através do aumento na absorbância lida em espectrofotômetro no comprimento de onda de 410 nm. O substrato foi oferecido aos suportes e, após 5 minutos, o material foi separado magneticamente, realizando-se a leitura de absorbância. Esse procedimento também foi utilizado para as enzimas livres, como também para sobrenadantes e alíquotas das lavagens. As medidas de absorbância foram transformadas em valores de concentração de *p*-nitrofenol por meio de uma curva de calibração. Uma unidade de atividade enzimática (1 U) foi definida como a quantidade de enzima que converte 1  $\mu\text{mol}$  de *p*-nitrofenilpalmitato em *p*-nitrofenol em 1 minuto. As medidas foram realizadas a  $20 \text{ }^\circ\text{C}$  e em duplicata.

Os ensaios apresentaram médias de rendimento de imobilização de 8% para MX e 0% para HpMX, considerando a enzima CalB. Para TLL os rendimentos observados foram 40% para MX e 77% para HpMX. As diferenças de rendimento de imobilização entre CalB e TLL podem ser atribuídas às diferentes diluições empregadas, o que torna o ambiente de imobilização da CalB mais viscoso e prejudica sua difusão até o interior dos poros dos suportes. Os resultados com a enzima TLL indicam que a hidrofobicidade do material HpMX exerce um relevante papel na etapa de imobilização. No que se refere à atividade da enzima CalB suportada, os valores obtidos foram 2,0 e  $2,7 \text{ U g}^{-1}$  para MX e HpMX, respectivamente; enquanto para TLL foram 7,5 e  $6,3 \text{ U g}^{-1}$ , respectivamente. Neste caso, o maior valor de atividade no material MX está relacionado tanto à maior exposição dos sítios ativos da enzima que é favorecida pela superfície hidrofílica, quanto à estrutura porosa e desimpedida que facilita o acesso do substrato. Em conclusão, ambos materiais, MX e HpMX, desempenharam o papel de suportes para lipases. Pôde-se observar que, para TLL, o rendimento de imobilização foi maior na superfície do suporte hidrofóbico, enquanto que a atividade enzimática foi maior no suporte hidrofílico. Esses materiais possuem propriedades adequadas que os tornam potenciais suportes enzimáticos com aplicação em biocatálise.

Agradecimentos: CAPES, FAPERGS, CNPq, CNANO, CMM-UFRGS, LAM-UFRGS e Grupo de Laser e Óptica-UFRGS.