

BIOTECNOLOGIA

IMOBILIZAÇÃO DE LIPASES EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS VISANDO CATÁLISE DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Thais de Andrade Silva^{1*}; Sérgio Campos Monteiro Gomes¹; Jairo Pinto de Oliveira¹; Gabriel Gomes de Moura Carvalho²

(1) Universidade Federal do Espírito Santo - UFES; (2) Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - IFES. *e-mail para correspondência: thaisandrade1213@hotmail.com.

A utilização de lipases imobilizadas em suportes nanoestruturados têm catapultado resultados surpreendentes na catálise de biocombustíveis, devido principalmente ao aumento da área superficial, e no caso dos nanomateriais magnéticos, pela capacidade de recuperação e reutilização. Embora tenha surgido nos últimos anos um número crescente de publicações sobre os processos de imobilização, o controle minucioso deste processo associado à falta de reprodutibilidade tem inviabilizado aplicações em escala industrial. Isto porque o sítio ativo da enzima pode estar envolvido aleatoriamente no processo de conjugação com os nanomateriais. Portanto, o objetivo deste trabalho foi desenvolver uma estratégia de bioconjugação de lipases em suportes nanomagnéticos por meio de ligação covalente visando o estabelecimento de uma plataforma reprodutível de lipases orientadas na superfície de nanopartículas magnéticas de ferro (Fe_3O_4). A síntese de NPMs foi realizada utilizando um método de coprecipitação química dos cloretos de ferro II e III (razão molar 1:2) na presença de 0,9 M de hidróxido de amônio. Após esta etapa as NPMs foram funcionalizadas com 3-mercaptopropil trimetoxissilano (MPTS) na concentração de 0,013 M. A conjugação da lipase livre obtida de *Aspergillus oryzae* foi realizada em meio reacional por 60 min, com agitação de 200 rpm à 28 °C. A dosagem de proteínas totais foi determinada por espectrofotometria UV-Vis e a atividade enzimática foi determinada pelo método de redução do p-nitrofenil palmitato. O material foi caracterizado por difratometria de raios x (DRX), microscopia eletrônica de varredura (MEV), microscopia eletrônica de transmissão (MET), infravermelho (FTIR) e espalhamento Raman. As nanopartículas magnéticas apresentaram tamanho médio de 100 nm, monodispersas e com estrutura cristalina predominante em espinélio demonstrada pelo DRX. A confirmação da bioconjugação pôde ser observada pela análise de FTIR e espalhamento Raman com vibrações características de NH_2 e COOH . O método de funcionalização da superfície das nanopartículas com 3-mercaptopropil trimetoxissilano conseguiu imobilizar, em média, 192,3 mg de lipase por grama de nanopartículas e mantendo até 4.746,64 U de atividade enzimática após a conjugação. Estes resultados cadenciam o método de imobilização baseado em MPTS como promissor para imobilização de macromoléculas em suportes magnéticos.

Palavras-chave: Nanopartículas magnéticas. Imobilização. Lipase. Catálise biológica. Biocombustíveis.