

## **IMOBILIZAÇÃO DA ENZIMA $\beta$ -galactosidase RECOMBINANTE EM NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS FUNCIONALIZADAS COM NÍQUEL**

Matheus Loch Velvites Ferreira<sup>1</sup>, Vitória La Porta<sup>1</sup>, Bruna Coelho de Andrade<sup>1</sup>, José Vinícius Gonçalves<sup>1</sup>, Giandra Volpato<sup>2\*</sup>  
\*Orientador(a)

<sup>1</sup>Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) - *Campus do Vale*

<sup>2</sup>Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Sul (IFRS) - *Campus Porto Alegre*. Porto Alegre, RS

A enzima  $\beta$ -galactosidase é amplamente utilizada na indústria de alimentos e farmacêutica por catalisar a hidrólise da lactose. A utilização desta enzima em processos industriais pode ser melhorada quando utilizadas técnicas de DNA recombinante direcionadas para imobilização orientada de enzimas, por meio da incorporação de marcadores de afinidade, como a cauda de histidina (His-tag). A interação do grupamento imidazol das histidinas com o níquel permite a fixação direcionada e reversível da enzima recombinante em uma superfície sólida, conferindo estabilidade ao sistema de imobilização, além disso, a imobilização possibilita a recuperação e reutilização da enzima. Já as nanopartículas magnéticas (NPM) apresentam características como a fácil separação da enzima imobilizada pelo uso de um campo magnético, elevada área superficial e possibilidade de funcionalização da sua superfície. Assim, o objetivo deste estudo foi imobilizar a  $\beta$ -galactosidase de *Kluyveromyces sp.* contendo cauda de histidina, de forma orientada em NPM-Ni. Para isso, a enzima  $\beta$ -galactosidase recombinante contendo His-tag foi produzida em *Escherichia coli* BL21(DE3). As nanopartículas foram sintetizadas pelo método de coprecipitação química utilizando os sais de ferro  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  e  $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , contendo histidina na superfície e posteriormente tratadas com níquel (NPM-His-Ni). Os ensaios foram realizados em tubos falcon de 15 mL, adicionando 50 mg de NPM-His-Ni e 5 mL do extrato enzimático diluído em tampão de lise, todos os experimentos foram feitos em triplicatas. As cargas de enzima testadas foram de 400, 600, 800 e 1000 U/gsuporte, juntamente com os respectivos controles contendo apenas o extrato enzimático. Durante os ensaios os tubos foram mantidos em agitação orbital (150 rpm) à temperatura ambiente. Ao longo de 40 minutos foram medidas a atividade do sobrenadante e ao final da enzima imobilizada, por meio de um método colorimétrico utilizando o ortho-Nitrophenyl- $\beta$ -galactoside (ONPG). A análise estatística dos dados foi realizada através da análise de variância (ANOVA) e teste de Tukey, utilizando o software BioEstat 5.0. Verificou-se que a imobilização ocorreu em 30 minutos, para todas as cargas testadas. O maior rendimento obtido foi de aproximadamente 88% quando utilizada a carga de 1000 U/gsuporte, não havendo diferença significativa com as cargas de 400 e 600 U/gsuporte. Os maiores valores de eficiência e atividade recuperada foram de aproximadamente 87% e 76%, respectivamente, para a carga de 400 U/gsuporte. O presente estudo demonstra que a  $\beta$ -galactosidase imobilizada nas NPM-His-Ni é um biocatalisador promissor para aplicação em processos industriais.

Palavras-chave: Imobilização. Nanopartículas magnéticas.  $\beta$ -galactosidase.